The University of Chicago
Library

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XXXVIII. Band.

Originale.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO LIBRARY

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
# und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XXXVIII. Band.
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 12 Tafeln und 161 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1905.

235931

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 1.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien
(Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

III. Zur Aetiologie der Peritonitis.

I. Mitteilung.

Von Dr. **Anton Ghon** und weiland Dr. **Milan Sachs.**

Mit 1 Tafel.

Daß die Aetiologie der akuten „eiterigen“ Peritonitis keine einheitliche ist, weiß man seit langem. Von unseren bekannten pathogenen Mikroorganismen kommen viele als Erreger dieser Form der Bauchfellentzündung in Betracht, doch spielen, wenn es sich um Infektionen mit nur einer Bakterienart handelt, zweifelsohne auch hier die sogenannten vulgären Eitererreger die Hauptrolle. Staphylococcus pyogenes, Streptococcus pyogenes und Diplococcus pneumoniae sind diejenigen Bakterienarten, die als die häufigsten Erreger der akuten eiterigen Bauchfellentzündung überall genannt werden. Dazu gesellen sich noch Bacterium coli commune und als etwas seltener Erreger Micrococcus gonorrheae. Die Fortschritte in der Kenntnis dieser Peritonitisformen wurden wesentlich gefördert durch die Leichtigkeit und Einfachheit des Nachweises der genannten Bakterienarten.

Anders verhält sich die Sache jedoch, wenn es sich um Mischinfektionen, um gleichzeitige Infektion mit mehreren verschiedenen Bakterienarten handelt, wie sie häufig bei Peritonitis nach Perforation des Magendarmtraktes vorzukommen pflegen. Man hat sich im allgemeinen seit jeher keine allzu große Mühe gegeben, bei solchen Mischinfektionen der Bauchhöhle eine genaue bakteriologische Analyse vorzunehmen, alle die einzelnen Arten der im Exsudate vorhandenen Bakterien rein zu züchten und zu bestimmen. Fand man nur leicht erkennbare pathogene Keime darunter, so gab man sich meist zufrieden und war gewillt, diese als die Ursache oder zumindest als die Hauptursache der Peritonitis anzusehen. In vielen Fällen mag es ja auch wohl so sein.

Der Grund dafür, daß man sich vielfach so leicht zufriedenstellte — und es zum Teil auch heute noch tut — dürfte darin liegen, daß in solchen Fällen die Versuche der Züchtung mit den gangbaren Methoden keine zufriedenstellenden Resultate ergaben, der Befund der Deckglaspräparate und Kulturen niemals miteinander völlig übereinstimmte, die komplizierteren Methoden des Nachweises jedoch zum Teil nicht gekannt, zum Teil nicht durchführbar waren.

Die Erweiterung unserer Kenntnisse über die pathogenen Bakterien ließ uns solche auch unter den sogenannten Anaërobien kennen lernen und vielerorts ist die Bedeutung letzterer auch für gewisse Formen der Peritonitis erkannt worden.

Mit Nachdruck hat diese Bedeutung der anaëroben Bakterienflora für die Aetiologie der Peritonitis erst unlängst wieder P. L. Friedrich[1])

---

[1]) Friedrich, P. L., Zur bakteriellen Aetiologie und zur Behandlung der diffusen Peritonitis. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXVIII. 1902.)

25.3.22
32388 F

hervorgehoben. Dieser Autor beobachtete tödliche Anaërobeninfektionen des „para-peritonealen“ Zellgewebes „mehrfach nach Mastdarmresektion bei Carcinom sowie im Gefolge von ganz akuter Perityphlitis, wo Brand des ganzen Wurmfortsatzes vorlag“. Nach Friedrich treffe man übrigens bei der bakteriologischen Untersuchung peritonitischer Exsudate „eine große Reihe formverschiedener, anaërober Bakterien“. Zumeist handle es sich dabei um „Kurz- oder Langstäbchen“, von denen manche dem malignen Oedembacillus, andere dem Tetanusbacillus ähnlich seien. Auch anaërobe Streptokokken ließen sich zuweilen nachweisen. Ja, Friedrich geht so weit, zu behaupten, daß fast in keinem „perityphlitisch — oder perforativ — peritonitischen“ Exsudat Anaërobien vermißt würden.

Es ist zweifelsohne Friedrich zuzustimmen, daß man den Anaërobien bei der akuten Peritonitis größere Aufmerksamkeit schenken soll, als es bisher geschehen war. Nur wäre es unserer Meinung nach wünschenswert, daß dabei auch der Umstand Berücksichtigung fände, welche anaërobe Arten dabei in Betracht kämen und ob bei bestimmten Formen der Peritonitis immer wieder gewisse Anaërobien nachweisbar seien oder nicht. Friedrich beschrieb keine Arten. Die „Feststellung der Art und Differenzierung der einzelnen Keime“ erscheinen ihm von untergeordneter Bedeutung, da er eine „Spezifität“ der Anaërobien bei den peritonitischen Prozessen nicht anerkennt. Diese Anschauungen Friedrichs dürften nicht überall Zustimmung finden.

Vor allem schon deshalb nicht, da uns heute noch jede Berechtigung dazu fehlt, die Kenntnis der einzelnen Arten zu unterschätzen. Brauchbare systematische Untersuchungen nach dieser Richtung hin liegen nicht vor, dazu sind unsere Kenntnisse über die anaëroben Bakterien überhaupt noch vollständig lückenhafte. Es sollte demnach unser Streben gerade darauf gerichtet sein, alle bei pathologischen Prozessen des Menschen gefundenen anaëroben Keime genauestens kennen zu lernen, um sich ein Urteil über ihre ätiologische Bedeutung bilden zu können.

Von dieser Anschauung ließen sich wohl auch schon Tavel und Lanz[1]) bei ihren Untersuchungen über die Aetiologie der Peritonitis leiten. Unter den Bacillen, die nach diesen Autoren bei der bakteriellen Peritonitis eine Rolle spielen, erwähnten sie vor allem einen Bacillus, der sich fast in jedem Dickdarminhalt vorfand und in einzelnen Fällen im peritonitischen Eiter in großer Anzahl anzutreffen war. Tavel und Lanz bezeichneten diesen Bacillus als „Actinomyces-ähnlichen“. Sie konnten ihn nie in Reinkultur erhalten, und da er nur selten und dann nur spärlich zusammen mit anderen Bakterien wuchs, sahen sie ihn als ein Anaërobion an. In allen Fällen, in denen diese Bacillen reichlicher gefunden wurden, hatte der Eiter einen sehr penetranten, widerlich-süßen Geruch. Diese Bacillen lagen im Exsudat meist in Gruppen, ineinander verfilzt, hatten eine Länge von ungefähr 4—6 μ und eine Breite von 0,3—0,5 μ. In einem Falle erlangten diese Bacillengruppen Stecknadelkopfgröße und bildeten dadurch Actinomyces-ähnliche Körnchen, doch fehlten Kolben. Diese Bacillen fanden Tavel und Lanz sowohl in akuten als auch in chronischen Fällen, da sie aber niemals allein zu finden waren, konnte ihre ätiologische Bedeutung nicht näher festgestellt werden.

---

[1]) Tavel, E. und Lanz, O., Ueber die Aetiologie der Peritonitis. (Mitteilungen aus Kliniken und medizinischen Instituten der Schweiz. 1893.)

Ob der von den beiden Schweizer Autoren beschriebene Bacillus tatsächlich den Anaërobien angehört, kann unserer Meinung nach nicht als sicher hingestellt werden, da Kulturen nicht gelangen. Ebenso mißlang ihnen die Kultivierung eines anderen, tetanusähnlichen Bacillus, den sie 3mal mit noch anderen Bakterien zusammen fanden. Der Bacillus war dünner als der „Actinomyces-ähnliche“, nach Gram „weniger intensiv“ färbbar und zeigte Sporen, weniger groß und mehr oval als die des Tetanusbacillus. Durch Impfung einer Maus gelang es ihnen in einem Falle, festzustellen, daß es sich dabei nicht um den echten Tetanusbacillus handle.

Schließlich erwähnten Tavel und Lanz noch in ihrer Tabelle, die die bakteriologischen Resultate zusammenfaßt, den Befund von „langen dünnen“ Bacillen in einer Anzahl von Fällen und in einem Falle den Befund von „plumpen Bacillen“, die nach der Methode von Gram gefärbt blieben, während die „langen dünnen“ Bacillen bei dieser Methode teils gefärbt, teils nicht gefärbt waren. Es unterliegt unserer Meinung nach kaum einem Zweifel, daß es sich bei den „plumpen“ Formen um den Gasbacillus von Welch-Fraenkel oder einen diesem ähnlichen gehandelt hatte. Auch die „langen dünnen“ und die „tetanusähnlichen“ Bacillen entsprächen ihren morphologischen Charakteren nach anaëroben Bakterien.

Schmale, leicht gebogene, nach Gram färbbare Bacillen, die niemals in Kulturen erhalten werden konnten, fand auch Krogius[1]) in 16 von 28 untersuchten Fällen von Appendicitis, einen „tetanusähnlichen“ Bacillus dagegen nur in einem Falle.

Dagegen fehlen in dem zusammenfassenden Referate von M. von Brunn[2]) „Ueber Peritonitis“ aus dem Jahre 1901 Angaben über peritoneale Infektionen mit Anaërobien so gut wie vollständig.

Eine bestimmte, gut gekannte anaërobe Art als Erreger der Peritonitis beschrieb erst Welch[3]). In seiner umfassenden Zusammenstellung über den Bacillus aërogenes capsulatus als Krankheitserreger berichtete Welch über 13 Fälle diffuser „Pneumo-Peritonitis“ durch den genannten Bacillus. 11 dieser Fälle wurden teils von Welch selbst, teils von Flexner obduziert und 7 davon bis zum Jahre 1896 publiziert. Was die beiden anderen betrifft, so wurde über den einen von Page[4]), über den anderen von Pratt und Fulton[5]) berichtet. 10 von den 13 Fällen waren nach Perforation des Magendarmtraktes entstanden, und zwar 4 nach Perforation von Typhusgeschwüren, 4 nach Perforation von Magengeschwüren, 1 nach Perforation des strangulierten Darmes und 1 nach Perforation eines carcinomatösen Geschwüres im Duodenum. In diesem letzten Falle wurde die Autopsie 14 Stunden nach dem Tode gemacht und der „Gasbacillus“ in Reinkultur und sehr reichlich in dem serös-fibrinösen Exsudat der Bauchhöhle gefunden, während die übrigen Organe und das Blut von Bacillen frei waren,

---

1) Krogius, A., Om appendiciternas bakteriologi. (Finska Läkaresällskapets Handlingar. 1899. — Ref. in Baumgartens Jahresbericht von 1899.)

2) v. Brunn, M., Ueber Peritonitis. Zusammenfassendes Referat über die Peritonitisliteratur der Jahre 1885—1900. (Centralbl. f. allgem. Pathologie u. pathol. Anatomie. 1901.)

3) Welch, Morbid conditions caused by the Bacillus aërogenes capsulatus. (The Philadelphia med. Journ. 1900. Vol. II.)

4) Page, zitiert nach Welch.

5) Pratt, J. H. and Fulton, F. T., Report of cases in which the Bacillus aërogenes capsulatus was found. (Boston med. and surg. Journ. 1900. June.)

demnach keine „Schaumorgane“ vorhanden waren. In den übrigen Fällen von Perforationsperitonitis waren neben Gasbacillen noch andere Bakterien vorhanden, doch dominierten erstere. In allen Fällen war das Abdomen mit Gas erfüllt. Besonderen Wert legt Welch den Fällen von „Pneumo-Peritonitis“ mit Gasbacillen bei, die nachweisbar ohne Darmperforation entstanden waren, und verweist in dieser Hinsicht auf einen von ihm und Flexner veröffentlichten solchen Fall. Auch berichtet er über einen von Flexner in Manila beobachteten analogen Fall, in dem bei der Obduktion, 12 Stunden nach dem Tode, hämorrhagische Infarzierung des unteren Ileums und des anliegenden Dickdarms gefunden wurde nach Durchtritt dieser Darmabschnitte durch ein Loch im Mesenterium. Die Bauchhöhle war voll Gas und schaumigem, blutigem Serum mit fibrinöser Exsudation. Perforation des Darmes fehlte. Aus dem peritonealen Exsudat konnte der Gasbacillus in reichlichster Menge und in Reinkultur erhalten werden. Im Blute und in den übrigen Organen war Gas nicht nachweisbar.

Mit noch anderen Bakterien gemischt, fand Welch den Gasbacillus 2mal in zirkumskripten, gashaltigen, intraperitonealen Abscessen nach Perforation des Wurmfortsatzes.

In jüngster Zeit endlich berichtete Brunner[1]) über anaërobe Bakterienbefunde bei Peritonitiden nach Magenperforationen, er hält jedoch die Bedeutung der Anaërobien für die Peritonitis im allgemeinen für gering, da sich bei seinen Untersuchungen nur vereinzelt solche finden ließen. So berichtet Brunner, daß er im Falle 5 — Ulcusperforation — neben Kettenkokken noch Gram negative Kokkobacillen fand, welche aërob nicht weiter wuchsen, und daß er ferner im Falle 6 — gleichfalls eine Ulcusperforation — mikroskopisch neben Kettenkokken noch lange, dicke Bacillen, zum Teil in Fäden, nachweisen konnte. In diesem Falle wurde kulturell von Silberschmidt eine anaërobe Species isoliert — neben Staphylococcus pyogenes und Streptococcus pyogenes — die verschieden lange, unbewegliche Bacillen darstellte ohne Sporenbildung. Diese Bacillen wuchsen streng anaërob, rasch bei 37°, langsam bei 22° und bildeten in Gelatine nach 6 Tagen etwa stecknadelkopfgroße Kolonieen mit Verflüssigung des Nährmediums. Charakteristisch wurden die Gelatinekulturen dadurch, daß die ursprünglich runde Verflüssigungszone der Kolonieen sich unten zuspitzte und die Bakterienmassen am Boden des gebildeten Trichters sich niederließen. In Zuckeragar bildete der Bacillus Gas ohne Geruch. Einen diesem ähnlichen Bacillus will Silberschmidt aus einem stinkenden Eiter isoliert haben.

Im Falle 8 endlich — wieder eine Ulcusperforation — wurden im Exsudat mikroskopisch reichlichst Bakterien nachgewiesen, darunter längere, nach der Methode von Gram nicht entfärbbare Bacillen. Kulturell fand sich in diesem Falle neben Bacterium coli, Ketten- und Haufenkokken und Kartoffelbacillus, in den anaëroben Bouillonkulturen noch ein langer Bacillus, der Gram negativ und nicht weiter züchtbar war.

Aus den im vorhergehenden wiedergegebenen Literaturangaben ersehen wir demnach, daß unsere Kenntnisse über anaërobe Peritonitiserreger keine sehr eingehenden sind. Wohl sind einige, morphologisch

---

1) Brunner, C., Weitere klinische Beobachtungen über Aetiologie und klinische Therapie der Magenperforationen und Magenperitonitiden. (Beiträge z. klin. Chirurgie. Bd. XL. 1903.)

sicher verschiedene Arten gefunden worden, aber ihre bakteriologische Identifizierung läßt so viel zu wünschen übrig, daß diese Befunde kaum verwertet werden können. Außerdem fanden sich die meisten der oben angeführten Arten neben anderen, als pathogen gekannten Mikroorganismen, so daß ihre ätiologische Bedeutung nicht einwandfrei sichergestellt ist. Eine Ausnahme macht nur der Gasbacillus von Welch-Fraenkel. Diese anaërobe Species ist eine wohlgekannte, ihre ätiologische Bedeutung für gewisse Krankheitsprozesse zweifellos festgestellt. Den Mitteilungen von Welch zufolge wurden entzündliche Veränderungen des Peritoneums beobachtet, welche bakteriologisch reichlichst und in Reinkultur den Gasbacillus nachweisen ließen. Wir hätten also keinen Grund, die ätiologische Bedeutung des Gasbacillus von Welch-Fraenkel für gewisse Formen der Peritonitis noch anzuzweifeln.

Im Wiener pathologisch-anatomischen Institute hatten wir bereits mehrfach Gelegenheit, den Bacillus von Welch-Fraenkel im Exsudat von akuten Bauchfellentzündungen nachweisen zu können. Meist fand er sich dabei in Gesellschaft noch anderer Bakterien. Doch war in manchen der Fälle seine Menge gegenüber den anderen Bakterien eine so vorherrschende, daß der Befund als ein auffallender bezeichnet werden mußte. In 2 Fällen jedoch konnten mikroskopisch außer Gasbacillen andere Bakterien überhaupt nicht gefunden werden. Kulturell ließen sich allerdings auch in diesen beiden Fällen neben Gasbacillen noch in geringerer Anzahl Bacillen der Coli-Gruppe nachweisen, doch war in beiden Fällen das Exsudat nicht unter sterilen Kautelen entnommen worden, da die Peritonitis klinisch nicht sicher diagnostiziert war. Beide Fälle betrafen vaginale Totalexstirpationen des Uterus mit seinen Adnexen und in beiden Fällen bot anatomisch die Peritonitis nicht das Bild der gewöhnlichen „septischen“ Bauchfellentzündung, das Exsudat war vielmehr nicht sehr reichlich, dabei serös-hämorrhagisch mit spärlichen Fibrinbeschlägen.

Daß der Gasbacillus von Welch-Fraenkel aber sicher nicht den einzigen anaëroben Bacillus darstelle, der für Peritonitiden ätiologisch in Betracht käme, dafür scheinen uns einerseits die oben angeführten, wenn auch nicht viel beweisenden Literaturangaben zu sprechen, andererseits unsere eigenen Untersuchungen.

Der im nachfolgenden eingehender mitgeteilte Fall soll den Beweis dafür erbringen.

* * *

Krankengeschichte (Auszug)[1]: Joh. L., 55 Jahre alt, krank seit Dezember 1902. Tägliches Erbrechen der genossenen Speisen einige Stunden nach dem Essen. Seit Mitte Januar 1903 schwarze Stühle. In letzter Zeit starke Abmagerung.

Bei der Untersuchung in der oberen Bauchgegend ein druckempfindlicher Tumor nachweisbar. Starker Foetor ex ore. Zunahme der Kachexie.

Am 5. Februar 1903: Hochtympanitischer Schall über dem Tumor und peritoneales Reiben an seinem medialen Rande. Abdomen aufgetrieben.

Am 6. Februar 1903 starke Schmerzen im Bauche, Kollaps, Tod.

Die Temperatur, die am Aufnahmetage — d. i. am 27. Januar 1903 — 38,3° C betrug, schwankte nachher zwischen 36,7 und 39,8° C, in den letzten Tagen zwischen 36,3 und 37,8° C.

Klinische Diagnose: Carcinoma ventriculi. Peritonitis perforativa. Nephritis haemorrhagica.

---

[1] Anmerkung: Die Krankengeschichte wurde uns von der V. medizinischen Abteilung des k. k. allgemeinen Krankenhauses in liebenswürdigster Weise zur Benutzung überlassen.

Sektionsdiagnose (Dr. Ghon): Zerfallenes Carcinom der kleinen Kurvatur des Magens, übergreifend auf die untere Fläche des linken Leberlappens und auf das Pankreas. Sekundäres Carcinom der Lymphdrüsen an der kleinen und großen Kurvatur des Magens und an der Leberpforte. Sekundäres verjauchtes Carcinom in der Leber. Zirkumskripte fibrinös-eiterige Peritonitis an der Vorderfläche des Magens. Multiple Abscesse in den Lungen mit frischer fibrinöser Pleuritis über dem linken Lungenunterlappen. Hämorrhagische Nephritis. Atrophie des Herzmuskels.

Die Obduktion war ca. 15 Stunden nach dem Tode gemacht worden.

Deckglaspräparate (Tafel: Fig. I) vom peritonitischen Exsudat zeigten neben reichlichen Eiterkörperchen sehr reichlich ziemlich kleine Gramnegative Bacillen mit mehr oder weniger auffallenden Größenunterschieden: Man fand alle Größen, von kleinsten, kaum sichtbaren Formen bis zu solchen, die etwas länger als Influenzabacillen und etwas dicker als diese erschienen. Die Bacillen zeigten teils reinen Stäbchentypus, d. h. der Längsdurchmesser war größer als der Breitendurchmesser und die Längsseiten lagen zueinander parallel, teils aber waren sie mehr oder weniger ausgebaucht. Dadurch entstanden Formen, die mehr längsoval erschienen oder sich in ihrem Aussehen den Kokken näherten. Die Bacillen lagen häufig zu zweit oder in kürzeren kettenförmigen Verbänden und waren verschieden stark gefärbt (Gram mit Fuchsinnachfärbung), häufig deutlich bipolar. Auch sah man zwischen den beschriebenen Formen sehr schwach tingierte und meist unscharf konturierte Gebilde, deren Zugehörigkeit zu den erwähnten Bacillenformen aus den vorhandenen verschiedenen Uebergangsformen zu diesen klar erschien (geblähte, degenerierte Formen). Die Bacillen lagen zumeist extracellulär, doch fand man sie auch zuweilen in den Zellen.

Andere Bakterien als die beschriebenen waren in den Präparaten nicht vorhanden.

Agarplatten-Strichkulturen blieben steril.

Zuckeragar-Schüttelkulturen mit Verdünnungen zeigten schon nach 48 Stunden (37° C), deutlicher in den folgenden Tagen Wachstum zahlreicher kleiner, rundlicher, grauweißlicher Kolonieen. Das Wachstum der Kolonieen, die bei Lupenbetrachtung anscheinend völlig gleich aussahen, begann jedoch erst ungefähr eine Fingerbreite unterhalb der Oberfläche. Entsprechend den Verdünnungen war die Größe der Kolonieen nicht in allen Zuckeragarröhrchen dieselbe, erreichte jedoch auch an den gut isolierten Kolonieen nicht die eines Stecknadelkopfes.

Deckglaspräparate von den Zuckeragar-Schüttelkulturen zeigten durchweg Gram negative Bacillenformen, die im allgemeinen dasselbe Bild gaben wie die im peritonitischen Exsudat beschriebenen. Nur fanden sich daneben noch ziemlich reichlich ungegliederte, verschieden dicke Fäden, häufig gekrümmt oder gewunden, manchmal auch wie angeschwollen oder gebläht, und schwach gefärbte, fast unkenntliche Formen. Auch von diesen Formen fand man alle Uebergangsbilder zu jenen, die Stäbchentypus zeigten.

Die Untersuchung der Zuckeragar-Schüttelkulturen ergab, daß es sich um eine Reinkultur einer besonderen anaëroben Bacillenart handelte, deren Eigenschaften weiter unten genauer beschrieben werden.

Zur histologisch-bakteriologischen Untersuchung gelangten Stücke des Tumors aus der Uebergangsstelle desselben vom Magen auf die Leber, Stücke von einer carcinomatös entarteten Lymphdrüse an der großen Magenkurvatur und Stücke von Lungenabscessen.

Magentumor mit Leber: Die Zellen des Tumors waren fast durchweg nekrotisch und dadurch unkenntlich. Gegen das Lebergewebe waren die kernlosen Tumormassen abgegrenzt durch einen ziemlich breiten Wall von polynukleären Leukocyten, die an ihrer Peripherie durchweg gut gefärbte Kerne zeigten, der Tumormasse zu hingegen schlechter gefärbt und undeutlicher begrenzt erschienen. Innerhalb dieses Leukocytenwalles fand man mehr oder weniger gut erhaltene Reste von Leberzellbalken. Das dem Leukocytenwall angrenzende Lebergewebe war komprimiert und zum Teil von Blutungsherden durchsetzt.

Innerhalb des erwähnten Eiterwalles sah man schon in den mit Hämalaun-Eosin gefärbten Präparaten, deutlicher aber in den mit Boraxmethylenblau tingierten verschieden große, wolkenähnliche Massen, die aus Bakterien bestanden. Diese Bakterien stellten meist kurze, seltener etwas längere Bacillen dar, die häufig deutlich bipolar gefärbt erschienen oder wie gekörnt aussahen, wenn solche bipolar gefärbte Formen zu kürzeren oder längeren gegliederten Fäden angeordnet waren. Im allgemeinen erschienen auch in den Schnittpräparaten die Bacillen schwach gefärbt und waren etwas deutlicher kenntlich nur dann, wenn sie isoliert lagen oder aber, wenn man sie in den Randpartieen der oben erwähnten Haufen aufsuchte.

In den zentralen Partieen der Haufen oder dort, wo diese dichter gefügt erschienen, waren die Bacillen in ihren Umrissen fast unkenntlich. Die Bacillen lagen auch in den Schnitten meist extracellulär, doch fand man nicht so selten auch Eiter- und Leberzellen, deren Protoplasma mehr oder weniger reichlich Bacillen enthielt (Tafel: Fig. II).

Bei der Färbung nach der Methode von Gram-Weigert wurden die beschriebenenen Bacillen entfärbt, wohl aber trat durch diese Methode stellenweise innerhalb des Eiterwalles ein Netzwerk zarter, violett tingierter Fasern deutlich zu Tage (fibrinöses Exsudat).

Andere Bakterien als die beschriebenen konnten in den Schnitten nicht gefunden werden.

Die Lymphdrüse erschien völlig substituiert durch Tumormassen, die zum größeren Teile nekrosiert waren. Auch hier fand man in den nekrotischen Tumormassen sowohl in den mit Hämalaun-Eosin als auch in den mit Boraxmethylenblau gefärbten Schnittpräparaten dieselben Bakterienhaufen wie im Magen-Lebertumor. Sie setzten sich auch hier aus denselben Bacillen zusammen, die wir oben beschrieben haben.

Andere Bakterien waren auch in der Lymphdrüse nicht nachweisbar.

Die Schnittpräparate aus den Lungenabscessen zeigten größere oder kleinere Herde, die teils aus polynukleären Leukocyten, teils aus nekrotischen Massen bestanden. Innerhalb dieser Herde sah man noch Reste des Lungenparenchyms, in dem diesen Herden angrenzenden Lungengewebe Blutungen und fibrinöse Exsudation. Tumorelemente waren in den Lungenherden nicht nachweisbar. Sowohl in den Rand- als auch in den zentralen Partieen dieser Lungenherde lagen kleinere oder größere Bakterienhaufen, manchmal auch innerhalb von Gefäßen. Am reichlichsten sah man diese Bakterienhaufen in einem Herde nahe der Oberfläche, dem entsprechend auch die Pleura fibrinös-eiterige Exsudatauflagerungen zeigte. Auch die in den Lungenherden nachweisbaren Bakterienhaufen bestanden durchweg aus Gram negativen Bacillen einer Art, die in der Form und Anordnung sowie hinsichtlich ihres färberischen Verhaltens mit jenen übereinstimmten, die wir im Magen-Lebertumor und in der Lymphdrüse beschrieben hatten.

Andere Bakterien waren nicht nachweisbar.

Die den beschriebenen Lungenherden naheliegenden kleineren Bronchien enthielten neben abgestoßenen Epithelien ziemlich reichlich polynukleäre Leukocyten und fibrinöses Exsudat. Bakterien konnten darin jedoch nicht gefunden werden, ebenso nicht in den pleuritischen Exsudatauflagerungen.

* * *

Das aus dem peritonitischen Exsudate in Reinkultur gezüchtete Bakterium war durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet:

Morphologisches und färberisches Verhalten.

Der Bacillus zeigte im allgemeinen kleine Formen, etwas länger und dicker als Influenzabacillen (Tafel: Fig. I u. III). Daneben fanden sich einerseits kürzere kokkenähnliche, andererseits längere Formen sowie kürzere oder längere, ungegliederte und gegliederte Fäden. Nicht so selten konnte man auch Formen finden, die ausgebaucht, wie aufgebläht erschienen (Tafel: Fig. III).

Alle die beschriebenen Formen fand man sowohl in den Ausstrichpräparaten aus dem peritonitischen Exsudat als auch in den Präparaten aus den Kulturen. In letzteren zeigten sich aber außerdem noch häufig — wenn auch nicht immer in gleicher Menge — andere Formen: längere, verschieden dicke Fäden, häufig gekrümmt oder vielfach gewunden (Tafel: Fig. IV), nicht selten auch knäuelartig durcheinander geschlungen, keulen- und birnförmige, rundliche oder ovale, hefezellenähnliche sowie spindel- und tonnenförmige Gebilde — alle diese Formen in verschiedenen Größen, mitunter in wahren Riesenformen (Tafel: Fig. V). Diese so verschiedenartig aussehenden Gebilde lagen entweder für sich zwischen den anderen kleineren Formen oder aber — und das war häufiger zu finden — als Anschwellungen von kürzeren und längeren Fäden sichtbar, entweder in der Mitte oder am Ende derselben gelegen. Dadurch kamen Formen zu stande, die Ganglienzellen und

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Spermatozoen ähnlich sahen. Diese Gebilde fanden sich nicht selten auch zu zweit und dritt im Verlaufe der Fäden, oft dazu noch in verschiedenen Größen, so daß dadurch rosenkranzähnliche oder ganz eigenartig unregelmäßige Formen sichtbar wurden (Tafel: Fig. V).

Der Färbung mit den gebräuchlichen Farbstoffen gegenüber verhielten sich die Bacillen nicht gleich. Während sich die typischen Bacillenformen, und zwar namentlich die kürzeren, zumeist nicht schwer färberisch darstellen ließen, waren die wie gebläht aussehenden Formen sowie die spindel- und tonnenförmigen Gebilde, die kleineren sowohl als auch die Riesenformen, schwer färbbar. Oft färbten sie sich überhaupt nicht, andere Male wieder nahmen sie den Farbstoff nur schwach an, so daß ihre Konturen undeutlich, verschwommen aussahen. Waren solche schwer färbbare Formen in den Präparaten vorherrschend. so konnte man in denselben dann nicht viel mehr als detritusähnliche Massen wahrnehmen.

Von den verschiedenen Methoden, die zur Darstellung dieser Gebilde versucht wurden — verschiedene Fuchsin- und Methylenblaulösungen, Gentianaviolett, spezifische Methoden mit und ohne Beize etc. — ergaben manchmal noch die verschiedenen Methylenblaufärbungen insofern die besten Resultate, als damit bei den erwähnten verschiedenartigen Formen nicht selten die beiden Polenden derselben als kleinste, mehr oder weniger stark gefärbte Körnchen sichtbar wurden.

Der Gramschen Methode gegenüber verhielten sich die Bacillen immer gleichmäßig negativ: sie entfärbten sich dabei rasch und vollständig, gleichgültig, ob es sich um jüngere oder ältere Formen handelte.

Die besten Resultate für die Darstellung aller Formen gab uns die Behandlung derselben mit Jod (Lugolsche Lösung oder Jodgummi). Die Konturen der verschiedenen Formen, unter welchen sich der Bacillus zeigte, traten bei dieser Darstellungsweise gewöhnlich deutlich, ja meist recht scharf hervor. Dabei erschienen die verschiedenen Bakterienformen entweder gleichmäßig hellgelb bezw. gelblich oder aber man fand in denselben mehr oder weniger reichlich meist braunrote Einlagerungen, und zwar sowohl in den kleinen, geraden als auch in den eigenartig gestalteten, aufgetriebenen Formen. Die Riesenformen waren fast durchweg gleichmäßig rotbraun gefärbt. Fäden erschienen durch diese Einlagerungen oft mehr oder weniger gleichmäßig oder segmentiert braunrot. Es soll hier ausdrücklich hervorgehoben werden, daß in 48 Stunden alten Zuckeragarkulturen mit 1 Promille Stärke, in welchen vorwiegend kürzere und plumpere Formen sichtbar waren, diese Braunfärbung nicht nachweisbar war. Dagegen konnte sie in älteren Kulturen mit Stärkezusatz gleichzeitig mit dem Auftreten von geschwollenen und Riesenformen sowohl in diesen als auch in den Fäden wieder nachgewiesen werden.

Die oben beschriebenen geblähten, verschieden gestalteten, schwer färbbaren Formen traten zahlreicher in älteren Kulturen auf, namentlich der späteren Generationen. Ebenso sah man die eigenartigen Riesenformen auch vorwiegend in älteren Kulturen, am schönsten und zahlreichsten in einer 10 Tage alten Traubenzucker-Agarkultur, der Neutralrot zugesetzt war. Die Bildung der Riesenformen schien uns namentlich durch den Traubenzuckergehalt der Nährböden begünstigt. In älteren Agar- und Gelatinekulturen mit 1—2 Proz. Traubenzucker fehlten diese Formen in den späteren Generationen fast nie, während gleichalterige

Gelatinekulturen ohne Traubenzucker sie fast völlig vermissen ließen. Zusatz von Milchzucker (2 Proz.) zu Agar und Bouillon begünstigte dagegen das Entstehen dieser Riesenformen nicht. Kulturen auf erstarrtem Loeffler-Serum und in erstarrter Hydrocelenflüssigkeit zeigten — auch wenn sie sehr alt waren — keine Riesenformen, sondern meist nur kurze Bacillen und längere, dünne Fäden.

Sporen konnten niemals nachgewiesen werden.

Die Tatsache, daß dem Bacillus die Fähigkeit, Sporen zu bilden, mangelte, daß ferner mit dem Alter der Kulturen auch die Zahl der geblähten und schwer sich färbenden Formen zunahm, bestimmte uns, diese eigentümlichen geblähten und Riesenformen als Degenerationsgebilde anzusprechen.

Kapseln ließen sich mit keiner der bekannten und gebräuchlichsten Methoden darstellen.

Die Bacillen waren stets unbeweglich, Geißeln konnten nach der Methode von Loeffler nicht nachgewiesen werden.

Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Der gezüchtete Bacillus ist ein streng anaërobes Bakterium und wächst ausschließlich nur bei höheren Temperaturen.

In Zuckeragar-Stichkulturen (1 Proz. Traubenzucker) zeigte sich oft schon nach 24 Stunden, besser und deutlicher nach 48 Stunden, manchmal auch erst später, Entwickelung entlang dem Impfstiche: entweder als zartes, graues, gleichmäßiges Band oder aber in Form einzelner, mehr oder weniger dicht stehender Kolonieen. Nicht selten sah man auch das in den oberen Partieen des Impfstiches gleichmäßig bandförmige Wachstum in einzelne nach unten an Größe zunehmende Kolonieen übergehen. Die Größe der einzeln stehenden Kolonieen war verschieden und abhängig von der Dichte der Aussaat. Gut isolierte Kolonieen erreichten selten Stecknadelkopfgröße, für gewöhnlich waren sie kleiner. Ausnahmsweise sahen wir einige Male Kolonieen einen Durchmesser bis zu 3 mm erlangen. Solche gut isolierte Kolonieen stellten dann, dem Impfstiche entsprechend, flache, bikonvexe Scheiben dar mit leicht bräunlichem, dichterem Kern und einem etwas helleren Hof, der häufig undeutlich dendritisch verästelt und unregelmäßig begrenzt aussah. Manchmal hatte der Hof ein mehr wolkiges Aussehen.

Aehnliche Kolonieen fanden sich auch in Zuckeragar-Schüttelkulturen bei entsprechender Verdünnung, sonst entstand in diesen Kulturen eine mehr oder minder starke wolkige Trübung.

In den Zuckeragarkulturen erfolgte gewöhnlich spärliche Gasbildung, bei häufigem Ueberimpfen und in geeignetem Nährboden war dieselbe auch manchmal reichlicher. Niemals jedoch war sie so stürmisch, daß es zur Zerreißung der Agarsäule kam.

Kulturen in gewöhnlichem Agar (ohne Zusatz von Zucker) ergaben dasselbe Bild wie Zuckeragarkulturen.

In nicht überschichteten Agar- oder Zuckeragarkulturen begann das Wachstum erst ca. 1,5—2 cm unterhalb der Oberfläche.

Oberflächenwachstum (auf Zuckeragar bezw. Agar) war im allgemeinen schwer erhältlich. Nur bei äußerst sorgfältigem und raschem Arbeiten zeigten Strichkulturen auf Zuckeragarplatten unter Wasserstoffatmosphäre (siehe 1. Mitteilung) bei relativ reichlicher Aussaat ein hauchartiges Wachstum entlang den Strichen, welches sich mikroskopisch bei schwacher und starker Vergrößerung als ein feingekörnter, verschwommen aussehender, zarter Rasen repräsentierte.

Plattengußkulturen in Zuckeragar unter Wasserstoffatmosphäre zeigten nach mehreren Tagen (bei 37°) im allgemeinen kleine, doch verschieden große und verschieden geformte, lichtbräunliche Kolonieen, unregelmäßig begrenzt. Schon bei Lupenvergrößerung konnte man erkennen, daß die meisten der Kolonieen sich aus einer Reihe kleinerer zusammensetzten, die nach außen zu weniger dicht standen und größer wurden. Diese Konglomeratkolonieen sahen mikroskopisch an der Peripherie oval oder rundlich aus, Parasiteneiern nicht unähnlich. Sie erschienen dabei gekörnt, wie glitzernd, licht gelblichbraun und meist scharf begrenzt. In den zentralen Partieen zeigten diese Konglomeratkolonieen ein bröckeliges Aussehen.

Zusatz von 2 Proz. Rohrzucker oder 2 Proz. Milchzucker zu Agar änderte insofern die Wachstumsverhältnisse, als bei Rohrzuckerzusatz die Entwickelung der Kulturen entschieden eine schwächere war als bei Traubenzucker- oder Milchzuckerzusatz. Dagegen war in den Rohrzucker-Agarkulturen die Gasbildung mitunter reichlicher als in den Traubenzucker-Agarkulturen, während in den Milchzucker-Agarkulturen oft jegliche Gasbildung ausblieb.

Zuckergelatinekulturen, mit Agar überschichtet und bei 37° C gehalten, ließen spärliches oder nur mäßig reichliches Wachstum erkennen in Form eines zarten, flockigen Niederschlages oder in Form zartester Flocken, die sich zunächst schwebend erhielten und dann unter gleichzeitiger Klärung des Nährbodens langsam zu Boden sanken.

Dasselbe Wachstum zeigten auch Gelatinekulturen (ohne Zusatz von Zucker).

Gasbildung konnte in den Gelatine- und Zuckergelatinekulturen nicht immer beobachtet werden, sie erfolgte manchmal aber auch dann — allerdings nur spärlich — wenn die Ueberschichtung der Kulturen mit sogenanntem „Wasseragar“ (Agar in Wasser gelöst ohne weiteren Zusatz) gemacht worden war.

Verflüssigung der Gelatine erfolgte nicht. Auch Kulturen, die bis zu 50 Tagen bei 37° gehalten wurden und üppiges Wachstum zeigten, erstarrten prompt, wenn sie in kaltes Wasser oder Eis gestellt wurden. Die Erstarrung der im Brütofen flüssig gewordenen Kulturen erfolgte allerdings nicht immer gleich rasch. Dieselbe Erscheinung zeigten aber auch nicht geimpfte Gelatineröhrchen, die zur Kontrolle gleich lange bei 37° gehalten wurden. Nur einmal blieb eine Zuckergelatinekultur, die — üppig angegangen — längere Zeit (35 Tage) bei 37° gehalten wurde, flüssig. Diese Kultur reagierte schwach, aber deutlich sauer. Eine größere Anzahl anderer Zuckergelatinekulturen derselben Beobachtungsreihe, jedoch mit anderer Provenienz des Nährbodens, erstarrten rasch und prompt.

In gewöhnlicher Bouillon erfolgte nach 2—3 Tagen Trübung, später Bildung eines feinflockigen Satzes, der sich bald zu Boden senkte, während sich gleichzeitig die Flüssigkeit völlig klärte. Spärliche Gasbildung (bei Ueberschichtung mit „Wasseragar“).

Traubenzucker-Bouillonkulturen zeigten im allgemeinen dieselben Verhältnisse, nur war das Wachstum etwas üppiger.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen, für Kaltblüter pathogenen Mikroorganismus (B. hypothermos).

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck (Vorstand: Prof. Dr. M. Löwit).]

Von Dr. **Carl Schwarz,** Assistenten am Institut.

Vor einigen Monaten sind im hiesigen anatomischen Institute zwei Brückenechsen (*Hatteria punctata*) aus Neu-Seeland angelangt, von denen die eine einige Wochen nach ihrer Ankunft einging. Bei der Sektion fanden sich vor und hinter dem Brustbein Absceßhöhlen, die mit käsigen, an verkäste Tuberkel erinnernde Massen erfüllt waren. Diesen Absceßinhalt hat Herr Prof. F. Hochstetter mir in freundlichster Weise überlassen, wofür ihm auch an dieser Stelle mein Dank ausgesprochen sei.

Die mikroskopische Untersuchung der käsigen Masse zeigte eine sehr große Menge von ungemein kleinen, oft zu zweien liegenden Stäbchen, die sehr leicht in Reinkultur zu erhalten waren.

Da sich diese in der Folge ausschließlich für Kaltblütler pathogen erwiesen, so scheint es mir bei der geringen Kenntnis derartiger Mikroorganismen nicht überflüssig, über die Biologie dieses bisher noch unbekannten Mikroorganismus etwas ausführlicher zu berichten.

Dieser Mikroorganismus ist ein kleines Stäbchen von 1,0—1,4 μ Länge, das im mikroskopischen Präparate vielfach zu zweien angeordnet, infolge seiner geringen Größe oft den Eindruck eines Diplococcus hervorruft. In den verschiedenen Kulturmedien konnte niemals eine gruppen- oder fadenförmige Anordnung der Stäbchen konstatiert werden. Es färbt sich leicht mit den gewöhnlichen Farbstoffen und wird nach der Gramschen Methode entfärbt. Frisch dem Tierkörper entnommene Stäbchen mit Löfflers Methylenblau gefärbt, lassen oft stark gefärbte Pole und einen fast ungefärbten Innenteil erkennen. Dieselben sind sehr lebhaft beweglich, und ihre nach der Pepplerschen Methode dargestellten Geißeln sehr lang und in großer Zahl peritrich angeordnet. An den frisch dem Tierkörper entnommenen Stäbchen läßt sich auch mit den gewöhnlichen Methoden eine deutliche Kapsel zur Darstellung bringen. Eine Sporenbildung war dagegen selbst in mehrere Monate alten Kulturen nicht beobachtet worden.

Das Wachstumsoptimum dieses Stäbchens liegt bei 15—20° C; oberhalb dieser Temperatur nimmt sein Wachstum allmählich ab und erlischt bei 37° meist vollkommen. Ebenso bedingt auch eine Temperaturerniedrigung (Eisschranktemperatur von 6—8° C) eine sehr eingeschränkte Entwickelung. Es gedeiht sowohl aërob wie anaërob und zeigt unter anaëroben Bedingungen nur eine ganz geringe Wachstumsverminderung. Manche bemerkenswerte Erscheinungen, die hierbei auftreten, sollen später erörtert werden.

Das Stäbchen ist auf den gewöhnlichen Nährböden, wie auch auf Serumnährböden, leicht züchtbar und zeigt auf beiden bereits nach 24 Stunden ein sehr üppiges Wachstum. Eine etwas erhöhte Alkalescenz des Nährbodens scheint seine Wachstumsintensität hierbei zu steigern. Für Gelatine besitzt es ein sehr bedeutendes Peptonisierungsvermögen, das unter anaëroben Bedingungen sehr stark herabgesetzt, oft sogar ganz aufgehoben ist, so daß nach wochenlanger anaërober Kultur die Menge der verflüssigten Gelatine eine ganz geringfügige ist. Im Gelatinestich ist die Verflüssigungszone anfangs schalenförmig, wird jedoch sehr rasch cylindrisch, so daß gewöhnlich bereits nach 24 Stunden eine mehrere Millimeter hohe Schicht des Nährbodens in eine trübe, zähe Flüssigkeit umgewandelt ist.

Auf der Gelatineplatte finden sich ca. 20 Stunden nach der Impfung makroskopisch kaum sichtbare, mikroskopisch rundliche, oft gelappt aussehende häutchenartige oberflächliche Kolonieen, die in ihrem Innern oft eine feine Zeichnung erkennen lassen, so daß sie in ihrem Anfangsstadium entfernt an ebensolche Typhusbacillenkolonieen erinnern. Diese Kolonieen bräunen sich allmählich im Zentrum, wobei zugleich die helle durchscheinende Randzone sich auffasert, um sich allmählich in formlose trübe Massen aufzulösen, die dann in der schalenförmigen Verflüssigungszone schwimmen. Die tiefen Kolonieen sind anfangs rundlich, gelblich oder gelblichbraun gefärbt und glattrandig; sie fasern sich ebenfalls sehr bald auf und verwandeln sich hierbei sehr rasch in unregelmäßige trübe Massen.

Die Agarstrichkultur zeigt bereits nach 24 Stunden ein sehr üppiges Wachstum in der Form eines grauweißen, ungemein feucht glänzenden, schleimigen Belages, der jenem von Kapselbacillen (B. pneumoniae Friedländer, B. lactis aërogenes) sehr ähnlich ist. Ebenso erinnert auch die Agarstichkultur mit ihrem nagelkopfartigen Oberflächenwachstum und seinem fadenförmigen Wachstum im Stichkanal an die gleichen Kulturen derselben Kapselbacillen.

Auf der Agarplatte zeigen sich bereits wenige Stunden nach ihrer Beschickung kleine, rundliche, häutchenartige, fein granulierte Kolonieen, die sich bald nagelkopfartig über die Oberfläche des Agars erheben; im Zentrum braun gefärbt, blassen sie gegen die Peripherie allmählich ab. Die tiefen Kolonieen sind rund oder wetzsteinförmig, glattrandig und gelblichbraun gefärbt.

Die Bouillonkultur wie die Peptonwasserkultur zeigt bereits wenige Stunden nach ihrer Impfung eine gleichmäßige Trübung mit einem massigen und beim Schütteln leicht gleichmäßig zu verteilenden Bodensatz; eine Kahmhaut wird niemals gebildet.

Milch wird ganz konstant nach 48 Stunden zur Gerinnung gebracht, ohne daß jedoch eine Säurebildung eintritt, so daß wohl an die Bildung eines labenden Fermentes gedacht werden darf.

Aeltere Kartoffelkulturen bieten vom 5.—6. Tage an ein bemerkenswertes Aussehen. Während in den ersten Tagen das Wachstum ganz uncharakteristisch ist in der Form eines gelblichweißen Häutchens, das sich allmählich zu einem sehr üppigen gelblichen Belag mit wallartigen Rändern umwandelt, finden sich vom 5.—6. Tage mitten auf dem Belag einzelne kleine bläschenartige Erhebungen, die langsam zu größeren gashaltigen Blasen anwachsen und später vielfach platzen. Die Untersuchung dieser ungemein kleinen Gasmengen war aus technischen Gründen leider vollständig undurchführbar.

Auf erstarrtem Rinderserum findet unter rascher Verflüssigung des Serums ein üppiges Wachstum statt.

Von den chemischen Leistungen dieses Mikroorganismus sei zunächst auf die Bildung von Indol hingewiesen, das in Peptonwasserkultur vom 3. Tage an mit zunehmender Stärke nachgewiesen wurde. Auch ein kräftiges Reduktionsvermögen konnte in den mit Methylenblau versetzten flüssigen und festen Nährböden festgestellt werden. Die Bildung von Schwefelwasserstoff kam niemals zur Beobachtung.

Was die Zersetzung des Traubenzuckers anbelangt, so beginnt in Traubenzuckerbouillonkulturen gewöhnlich erst vom 2. Tage an eine schwache Gasbildung, die auch in den folgenden Tagen nur ganz mäßig zunimmt. Die Untersuchung des aus einer großen Anzahl von Röhrchen gesammelten Gases ergab zum größten Teile Kohlensäure (ca. 50 Proz.), dann Kohlenwasserstoffe und eine kleine Menge Stickstoff. Wie die mit eiweißfreien, jedoch stickstoffhaltigen Nährböden angestellten Versuche zeigten, stammt der bei der Gasanalyse gefundene Stickstoff weder von Nitriten noch von Nitraten, sondern darf wohl als ein Endprodukt beim Abbau der Eiweißkörper angesehen werden. Mit Traubenzucker versetzte Agar- oder Gelatineschüttelkulturen zeigten unter anaëroben Verhältnissen immer eine viel bedeutendere Gasbildung als unter aëroben. In Milchzuckerkulturen konnte niemals Gasbildung beobachtet werden.

Die Untersuchung der Pathogenität dieses Mikroorganismus erstreckte sich sowohl auf Warmblüter, als auch auf Kaltblüter. Von Warmblütern kamen Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Mäuse und weiße Ratten zur Untersuchung. Bei diesen konnten weder durch intraperitoneale noch durch subkutane Infektion selbst mit großen Bakterienmengen (1—2 schräge Agarkulturen) irgendwelche lokale oder allgemeine Krankheitserscheinungen hervorgerufen werden. Alle verhielten sich durchaus refraktär.

Hingegen haben sich alle von mir untersuchten Kaltblüter mehr oder weniger empfänglich für diesen Mikroorganismus erwiesen. Zur Untersuchung kamen Frösche (*Rana esculenta* und *temporaria*), Tritonen (*Triton alpestris*), Salamander (*Salamandra atra*), Eidechsen (*Lacerta agilis*) und Schildkröten (*Testudo graeca*). Alle diese Tiere erlagen nach kürzerer oder längerer Zeit der Infektion und zwar ausnahmslos unter dem Bilde einer Septikämie, ohne daß irgendwo, auch nicht an der Infektionsstelle, lokale Prozesse zur Beobachtung kamen. Vom Obduktionsbefund sei nur die Anwesenheit einer kleinen Menge blutiger Flüssigkeit in der Körperhöhle als konstant hervorgehoben. Das Infektionsmaterial entstammte immer einer nicht mehr als 24 Stunden alten Agarkultur, die, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, zur subkutanen oder intraabdominalen Injektion diente.

Tritonen, Salamander, Eidechsen und Schildkröten erwiesen sich für diesen Mikroorganismus sehr empfänglich, da dieselben nach subkutaner Infektion mit einer oder einer halben Oese (0,012 mg) fast regelmäßig nach 3—4 Tagen eingingen. Frösche zeigten dagegen ein sehr verschiedenes Verhalten. Während in den Monaten März und April sämtliche Frösche nach subkutaner und intraabdominaler Infektion mit einer gewissen Regelmäßigkeit eingingen (bei einigen trat allerdings der Tod erst am 14. Tage ein), blieben dieselben in den Sommermonaten (Juni, Juli, August) selbst nach Infektion mit einer großen Bakterienmenge vollständig unversehrt. Da sich zu dieser Zeit jedoch dieser Mikroorganismus völlig virulent den anderen Kaltblütern gegenüber erwies, kann diese Verschiedenheit nur in einer mit der Jahreszeit veränderten Disposition der Frösche gelegen sein, wie sie bereits Ernst[1]) beobachtet und beschrieben hat.

Da der beschriebene Mikroorganismus ein relativ niedriges Temperaturoptimum (15—20° C) besitzt, so schien es nicht aussichtslos, einige Infektionsversuche in der Art anzustellen, daß man die infizierten Tiere durch mehrere Tage einer höheren Temperatur als der normalen aussetzte und die Erfolge der Infektion abwartete. Derartige infizierte Warmfrösche, die 5—8 Tage im Thermostaten bei 25° C gehalten wurden, blieben vor jedweder Infektion bewahrt, während die Kontrollfrösche, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt waren, der Infektion sicher nach wenigen Tagen erlagen. Selbst nach Infektion mit sehr großen Dosen ($^1/_2$—1 Agarkultur), nach welcher die Kontrollfrösche schon wenige Stunden nach der Infektion gewöhnlich eingingen, konnten an den Warmfröschen nicht die geringsten Krankheitserscheinungen beobachtet werden.

---

[1]) Zieglers Beiträge. Bd. VIII. 1890.

Eine 3-tägige Aufbewahrung der infizierten Frösche bei 25° C genügte, um sie dann bei Zimmertemperatur unversehrt am Leben zu erhalten. Derartige infizierte Frösche, die durch Aufbewahrung bei 25° C völlig intakt geblieben waren, zeigten jedoch keinerlei Erscheinungen von Immunität, sondern erlagen dann bei Zimmertemperatur selbst nach Impfung mit sehr kleinen Dosen regelmäßig der Infektion. Diese eben beschriebenen Versuche wurden ausschließlich an Fröschen und zwar an für diese Infektion empfänglichen Frühjahrsfröschen angestellt, die jedoch immer bereits mehrere Stunden vor der Infektion der erhöhten Temperatur ausgesetzt gewesen waren.

Ich hatte auch noch Gelegenheit, die zweite zur Zeit noch im anatomischen Institute lebend vorhandene Brückenechse zu untersuchen, bei der sich in der Kloakengegend ein ziemlich großer Absceß gebildet hatte. In diesem konnte derselbe Mikroorganismus nachgewiesen werden. Derartige chronische lokale Prozesse hervorzurufen, war bei den mir zur Verfügung stehenden Tieren unmöglich.

In selbst viele Monate alten Bouillonkulturen konnte eine Toxinbildung nicht nachgewiesen werden.

Von den in der Literatur beschriebenen ausschließlich für Kaltblüter[1]) pathogenen Mikroorganismen zeigt keiner, soweit dieselben überhaupt ausführlich beschrieben sind, eine Uebereinstimmung mit dem hier beschriebenen Mikroorganismus. Auch unter den in Matzuschitas[2]) „Bakteriologischer Diagnostik“ angeführten Mikroben war kein einziger mit dem hier beschriebenen zu identifizieren. Es bleibe vorläufig unentschieden, ob der beschriebene Mikroorganismus tatsächlich eine neue Species darstellt, da mir die diesbezügliche Literatur über die für Kaltblüter pathogenen Mikroben nicht genügend zugänglich war. Insolange aber die Identität desselben mit einer bereits bekannten Art nicht festgestellt ist, glaube ich denselben mit einem gesonderten Namen als B. hypothermos belegen zu sollen, der nach seinem niedrigen Temperaturoptimum gewählt wurde.

---

1) Matzuschita, Bakteriolog. Diagnostik. 1902. — A. Weber, Zur Aetiologie der Krebspest. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamt. Bd. XV. 1899.) — Babes, V. u. Riegler, P., Ueber eine Fischepidemie bei Bukarest. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. p. 438.)

2) l. c.

Nachdruck verboten.

Ueber Spirillum pyogenes Mezincescu.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Dr. L. Kamen).]

Von Dr. **R. Doerr,** k. und k. Regimentsarzt.

Mit 1 Tafel.

In Bd. XXXV. Heft 2 dieses Centralbl. macht Mezincescu eine Mitteilung über ein Spirillum, welches er in Reinkultur im Eiter eines operierten Falles von Pyelitis calculosa fand. Deckglas-Ausstrichpräparate enthielten zahlreiche rankenförmige, dünne und schlanke Gebilde, welche an beiden Enden zugespitzt waren und bei einer Länge von 3,6—8 μ 2—9 spiralförmige Windungen aufwiesen. „Längere, 10—12 μ habende Gebilde kommen seltener vor. — Neben diesen Formen, von welchen 2—3 auf einem Gesichtsfelde sich befanden, erschienen auch noch mehrere intracelluläre Spirillen, jedoch häufig nur als fragmentäre Formen, echte gekrümmte Stäbchen, welche 1—2 Krümmungen besitzen und dem Vibrio cholerae auffallend gleichen.“

Diese Mikroorganismen waren schwer tingibel, nur mit verdünntem Karbolfuchsin gut färbbar, Gram-negativ, auf den gewöhnlichen Nährböden (Fleischwasserpepton, Ascitesflüssigkeit, Agar, Blutagar) nicht kultivierbar und für weiße Mäuse nicht pathogen.

Mezincescu beansprucht für seinen Befund bei der Dürftigkeit unserer Kenntnisse über pathogene Spirillen ein besonderes Interesse, um so mehr, da hier der erste Fall eines Eitererregers aus dieser Gruppe vorliege. Er bezeichnet diese neue Art nach ihrer Wirkung als *Spirillum pyogenes.* Der Umstand, daß die Beobachtung des genannten Autors bisher isoliert blieb und daß die Kultur des Spirillums nicht gelang, veranlaßt mich, einen Fall von ausgedehnter eiteriger Entzündung seröser Häute mitzuteilen, bei dem sich als einziger Mikroorganismus gleichfalls ein Spirillum nachweisen ließ, das morphologisch dem von Mezincescu entdeckten so völlig gleicht, daß über die Identität beider kein Zweifel möglich ist.

Ein Vergleich der Mikrophotogramme Mezincescus mit den meinigen wird diese Behauptung bestätigen. Es gelang mir, Kulturen dieser Mikroorganismen zu erzielen, wodurch eine genauere Bestimmung derselben für die Folge ermöglicht ist; die Art des Wachstums und die Nährböden, auf welchen die Züchtung gelang, widerlegen auch die Vermutung, die im negativen Ausfall der Kulturversuche Mezincescus und in seinen Bildern bei Romanowskyscher Färbung eine Stütze findet, daß der von ihm gesehene Mikroorganismus etwa in die Gruppe der Trypanosomen einzureihen ist.

Aus der Krankengeschichte seien bloß folgende, für das Vorliegende wichtige Details erwähnt:

Patient ist 38 Jahre alt, litt seit seiner Jugend häufig an Malaria, da er in Malariagegenden in Siebenbürgen lebte, acquirierte mit 27 Jahren Lues. Im Frühjahr 1901 Magenbeschwerden, 1902 Ikterus. Daraufhin unterzog er sich einer Karlsbader Kur, in deren ersten Tagen sich ein heftiger, typischer Anfall von Gallensteinkolik einstellte. Steine konnten im Stuhl trotz genauester Untersuchung weder nach dieser noch nach einer zweiten heftigeren Attacke im November 1903 nachgewiesen werden. Schon 1902 war eine Vergrößerung der Leber in toto und außerdem ein Tumor hepatis nachweisbar, der als Gumma imponierte. Beide Veränderungen schwanden in kurzer Zeit unter antiluetischer Behandlung.

Ende 1903 Ikterus, Vergrößerung der Leber und Milz, acholische Stühle. Die Diagnose lautete: Chronischer Choledochusverschluß, Cirrhosis luetica (?).

Am 28. November 1903 Probelaparotomie. Bei dieser fand sich die Leber vergrößert, grün gefärbt, ihre Oberfläche ungleichmäßig und ziemlich fein granuliert und am vorderen Rande des rechten Lappens stark narbig eingezogen (entsprechend dem Sitze des oben erwähnten Gummas). Gallenblase adhärent, Steine nicht fühlbar. Die Lymphknoten im Verlaufe der großen Gallengänge und an der Leberpforte geschwollen, derb. In der Porta hepatis oberhalb des Foramen Winslowi fand sich ein kleinapfelgroßer, derber Tumor.

Diagnose: Hepatitis interstitialis luetica, Gumma hepatis.

Die Operationswunde wurde geschlossen und der Verlauf war weiterhin normal und vollkommen afebril bis zum 21. Dezember 1903. Es stellte sich jetzt Seitenstechen im Bereiche der linken Thoraxhälfte, Dämpfung, bronchiales In- und Exspirium 2 Querfingerbreit unterhalb des Angulus scapulae ein. Am 23. Dezember pleuritisches Reiben beiderseits hinten unten, Hustenreiz, dyspnoische Atmung. 25. Dezember Herzdämpfung verbreitert, Herztöne sehr schwach (Diagnose: Pleuritis bilateralis, Pericarditis).

Unter zunehmender Dyspnoë und nach wiederholten Kollapsanfällen erfolgte am 31. Dezember der Exitus.

Die Temperatur war am 23. Dezember auf 39,1 gestiegen und bestand von da an eine Continua mit abendlichen Steigerungen bis 39,6 und Morgenremissionen bis 38,3 durch 5 Tage bis zum Eintritt der Kollapstemperaturen.

Auszug aus dem Obduktionsprotokoll:

Diagnose: Cirrhosis hepatis luetica. Gumma centrale lobi hepatis sinistri subsequente cholangitide suppurativa. Tumor lienis chronicus. Pleuritis bilateralis et pericarditis haemorrhagica. Icterus gravis.

In beiden Pleurahöhlen dunkelbrauner, roter, dickflüssiger, mit reichlichen Fibrinflocken untermengter Eiter. Die Pleuren mit dicken, zottigen Fibrinauflagerungen bedeckt, erscheinen nach Abstreifen des stellenweise fester haftenden Belages blutreich und von Hämorrhagieen durchsetzt. Das Gewebe beider Lungen zeigt am Durchschnitte in den Unterlappen konfluierende lobulär-pneumonische Herde, ist sonst lufthaltig, blutreich und feucht. In den Bronchien Schaum und Schleim. Der Herzbeutel ist stark erweitert, enthält ca. 300 ccm einer dunkelrotbraunen, dicklichen, mit Fibrinflocken untermengten Flüssigkeit. Parietales und viscerales Blatt des Herzfelles mit Fibrinzotten bedeckt, erscheint nach Entfernung derselben injiziert und von Hämorrhagieen durchsetzt.

Die Leber ist vergrößert, derb, die Oberfläche fein und ungleichmäßig granuliert, die Kapsel an mehreren Stellen weißlich verdickt und narbig eingezogen. Im linken Lappen ein nußgroßer, zentral verkäster, von Schwielengewebe umgrenzter Herd. In seiner Umgebung erscheinen die Gallengänge erweitert und mit grünlich-gelbem Eiter erfüllt, der sich bei Druck in Form von Tropfen entleert. Im übrigen ist das Gewebe derb, blutreich, zeigt Muskatnußzeichnung.

Die bakteriologische Untersuchung des eiterigen Inhalts der Gallengänge ergab in den Ausstrichen nur vereinzelte Gram-negative Stäbchen, die sich durch das Kulturverfahren als Bacterium coli erwiesen. Die pneumonischen Herde enthielten Strepto- und Pneumokokken.

Dagegen zeigen Deckglas-Ausstrichpräparate sowohl aus dem pericardialen wie pleuralen Eiter mit verdünntem Karbolfuchsin (1 : 10) unter Erwärmen gefärbt, zahlreiche, 1 μ lange und sehr dünne, kommaförmig gekrümmte Stäbchen, die häufig zu zweien derart aneinander gelagert sind, daß Sigmaformen von 2 μ Länge entstehen. Etwas seltener, aber immer noch reichlich, sind Spirillen mit 2—3 Schraubenwindungen vertreten, die wahrscheinlich aus 4—6 Individuen bestehen, deren gegenseitige Abgrenzung in den gefärbten Präparaten jedoch nicht wahrnehmbar ist.

Alle diese Gebilde liegen zum Teil frei zwischen den Eiterzellen und roten Blutkörperchen, zum Teil sind sie von polynukleären Leukocyten aufgenommen, ohne daß dabei eine Einbuße an ihrer Färbbarkeit zu konstatieren wäre. Die Zahl der in einer Eiterzelle eingeschlossenen Bakterien schwankt zwischen 1—12, wobei sowohl Komma- als Sigmaformen als auch (seltener) Spirillen intracellulär auftreten und bisweilen in einer Zelle vereint sind. Andere Farbstoffe als verdünntes Karbolfuchsin nehmen diese Gebilde sehr schlecht auf: weder mit konzentriertem Karbolfuchsin noch mit verdünnten alkoholischen Lösungen von Methylenblau oder Gentianaviolett oder mit Loefflers Basischblau lassen sich befriedigende Resultate erzielen. Der Gramschen Färbung sind sie gleichfalls nicht zugänglich.

Die ersten Kulturversuche mißlangen. Es wurden Ausstriche auf Agar- und Blutagarplatten angelegt und zwecks anaërober Züchtung Stichkulturen in hochgeschichtetem Traubenzuckeragar. Als nach 24 Stunden kein Wachstum zu bemerken war — das übrigens auch bei längerem Aufenthalte im Brütofen völlig ausblieb — injizierte ich eine größere Menge (2 ccm) des in steriler Eprouvette verwahrten Eiters einer weißen Maus und zwar intraperitoneal. Ich nahm absichtlich eine größere Menge in der Hoffnung, daß selbst bei fehlender oder geringer Pathogenität für diese Tierart doch eine Vermehrung in dem mitinjizierten, den Vibrionen sicher zusagenden Nährsubstrat eintreten könnte. Diese Voraussetzung wurde bestätigt. Nach 48 Stunden ging das Tier ein und in dem spärlichen Peritonealsafte fanden sich so außerordentlich zahlreiche Spirillen, daß zur Herstellung von Deckglaspräparaten eine Verdünnung des Exsudates erforderlich war. Die Mikroorganismen waren nach Form und tinktoriellem Verhalten mit den injizierten vollkommen identisch, nur überwogen die Sigma- und Spirillenformen, welch letztere eine oft ziemlich bedeutende Länge (bis 20 μ) aufweisen. Auch zeigen sich in den längeren Gebilden intensiver gefärbte, fast schwarzrote, leicht verdickte Stellen, die an Ausdehnung ca. einer halben Schraubenwindung entsprechen. Die krankhaften Veränderungen bei der eingegangenen Maus beschränkten sich auf das Vorhandensein eines klebrigen, fadenziehenden, spärliche Leukocyten enthaltenden Exsudates in der Peritonealhöhle, das wohl infolge des aus dem hämorrhagischen Eiter resorbierten Blutfarbstoffes gelblich gefärbt war und auf eine geringe Schwellung der Milz, deren Parenchym ebenfalls zahlreiche Vibrionen enthielt. Das Herzblut war steril.

Es wurden nun neuerlich Kulturversuche mit dem Peritonealexsudat gemacht und zwar Ausstriche auf Agar, auf Kaninchenblutagar, Stichkulturen in Traubenzucker und Einsaaten in Bouillon und Ascitesbouillon. Agar- und Blutagarkulturen sowie die Stiche in Traubenzucker blieben dauernd steril. In den Bouillonröhrchen dagegen zeigte sich, und zwar erst nach 48 Stunden, eine leichte, beim Schütteln der Eprouvette deutlicher hervortretende, seidenartig glänzende Trübung, die in den folgenden Tagen zunahm. Nach einer Woche war am Boden des Röhrchens ein grauweißliches Sediment sichtbar, das an Menge weiterhin zunahm bei fortbestehender, gleichmäßiger Trübung der Flüssigkeit; an den Wänden der Eprouvette bildete sich im Flüssigkeitsniveau ein grauweißer, schmaler, dem Glase anhaftender Ring, von dem sich einzelne Teilchen ablösten, um als gröbere Bröckel zu Boden zu sinken. Aehnlich verhielten sich die Kulturen in Ascitesbouillon und später angelegte in Traubenzuckerbouillon. Weitere Ueberimpfungen auf Bouillon gelangen stets, nur dauerte es, wenn man wenig Material in den neuen Nährboden einsäte, bisweilen 3 × 24 Stunden bis zum Auftreten eines makroskopisch sichtbaren Wachstums.

Impft man in ein Gärungskölbchen, so erfolgt im anaëroben Schenkel kein Wachstum, die Trübung der Bouillon hört am Beginne des aufsteigenden Schenkels mit einer scharfen Linie auf. Gas wird in Traubenzuckerbouillon nicht gebildet. Bei Zimmertemperatur (22° C) erfolgt keine Entwickelung.

Pepton-Kochsalzlösung, Milch, Kartoffeln, Glycerinagar, Traubenzuckeragar bleiben steril, desgleichen Gelatine.

Impft man von einer Bouillonkultur auf Serumagar (menschliches Serum, Ascitesflüssigkeit etc.), so bilden sich nach 48 Stunden bei 37° C kleinste, kreisrunde, scharf begrenzte, homogene, unter dem Mikroskop wasserhelle, von Influenzakolonieen auf Pfeifferschem Blutagar nur durch ihre geringere Transparenz bei Lupenbetrachtung unterscheidbare Kolonieen, die jedoch, besonders an Stellen, wo sie mehr isoliert stehen, in den nächsten Tagen an Größe zunehmen. Gleichzeitig gewinnen auch die ursprünglich farblosen oder höchstens leicht gelblichen Ansiedelungen einen gelbbraunen Farbenton, erscheinen fein granuliert und im Zentrum der scheibenförmigen, noch immer scharfrandigen, kreisrunden Kolonie entstehen gröbere Bröckel, ähnlich wie bei Gonokokken Kulturen auf demselben Nährboden.

Die Haltbarkeit der Bouillonkulturen ist eine ziemlich beträchtliche; noch nach einem Monate gelangen Ueberimpfungen und hielt sich der Stamm bis in die 15. Generation.

Auf schrägem Serumagar dagegen oder auf Ascitesagar ist schon die 2. Generation sehr kümmerlich, die 3. Uebertragung bleibt in der Regel steril. Nur von Bouillonkulturen aus konnten immer wieder neue Kulturen auf Serumagar erzielt werden, deren Lebensdauer nur 2 bis 3 Tage betrug und deren Ueberimpfbarkeit in der geschilderten Weise beschränkt blieb.

Mit diesem differenten Verhalten auf Serumagar einerseits und in Bouillon andererseits stimmt auch das morphologische und tinktorielle Verhalten der auf diesen Nährböden gewachsenen Spirillen.

Aus Bouillon erhält man vom 2. Tage ab reichliche Komma- und Sigmaformen, die mit verdünntem Karbolfuchsin gut färbbar erscheinen. Mit zunehmendem Alter der Kultur werden die Formen immer länger, es treten immer zahlreichere Spirillen auf. In 3 Wochen alten Röhrchen erscheint besonders das Sediment und der weißliche Belag an der Eprouvettenwand im Flüssigkeitsniveau aus sehr langen, zahlreiche Schraubenwindungen aufweisenden Spirillen zusammengesetzt, während die ursprünglich dominierenden, kurzen Gebilde in den Hintergrund getreten sind.

Auf Serumagar dagegen sind die Formen dem atrophischen, hinfälligen Charakter der Kulturen entsprechend schmal, mehr gestreckt, mit Karbolfuchsin nur schwach färbbar, fast schattenartig. Es treten in ihnen runde, bei dieser Färbung schwarzrote Polkörner auf, und zwar in den kürzeren Gebilden 2 endständige Körner; in den längeren Spirillen erscheinen sie in gleichmäßigen Abständen über den ganzen Faden verteilt. Mit altem alkalischen Methylenblau sind diese Körner durch ihre metachromatisch-rötliche Nüance in den hellblau angedeuteten Bakterienleibern sehr deutlich darstellbar.

Der beschriebene Mikroorganismus ist vollkommen unbeweglich. Schon in aus dem Ausgangsmateriale angelegten hängenden Tropfen (mit Eiter geimpfte Bouillon-, Serumbouillon-, Zuckerbouillontropfen) zeigte sich nur eine zitternde, nicht besonders lebhafte Molekular-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

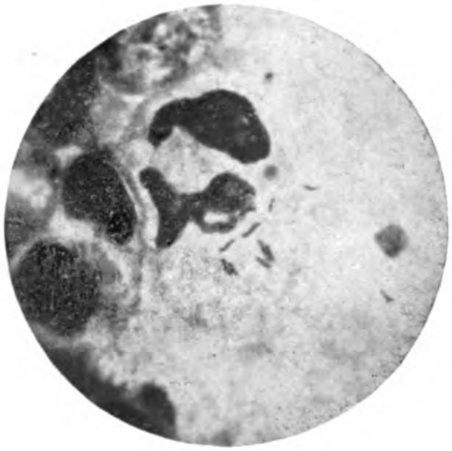


Fig. 1.

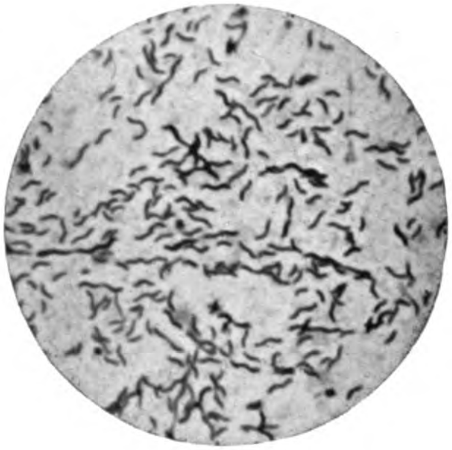


Fig. 2.

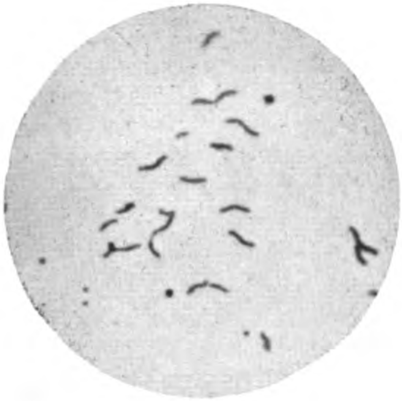


Fig. 3.

Fig. 1. Ausstrichpräparat aus perikardialem Eiter. Vergr. 1200.

Fig. 2. Ausstrichpräparat aus dem Peritonealexsudat der weißen Maus. Vergr. 1200.

Fig. 3. Viertägige Bouillonkultur. Vergr. 1200.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

bewegung der kurzen Gebilde, während die längeren und schwereren Spirillen in vollkommener Ruhe verharrten. Ebensowenig war selbst in üppig gewachsenen Bouillonkulturen Beweglichkeit zu beobachten, selbst bei Zuhilfenahme der Brüttemperatur. Auch mißlang völlig die Darstellung von Geißeln.

Für die üblichen Laboratoriumstiere scheint dieser Vibrio nicht pathogen zu sein. Die eine scheinbare Ausnahme der mit einer größeren Eitermenge geimpften Maus ist wohl so aufzufassen, daß das Tier infolge der Resorption toxischer Substanzen aus dem Eiter verendete. Denn es gelang nicht, weder mit dem Peritonealsaft dieser Maus, der doch so kolossale Mengen des Bakteriums enthielt, noch mit größeren Quantitäten Bouillonkulturen andere weiße Mäuse intraperitoneal zu infizieren. Ebenso blieben subkutane und intraperitoneale Injektionen bei Kaninchen und Meerschweinchen erfolglos. Nur ein junges Meerschweinchen (120 g) ging ein, zeigte aber eine Coli-Peritonitis (offenbar durch Verletzung des Darmes bei der Injektion zu stande gekommen); im Exsudat fanden sich jedoch auch vereinzelte, zu sehr bedeutender Länge herangewachsene Spirillen mit schön ausgeprägten Windungen.

Trotz dieser fehlenden Tierpathogenität stehe ich nicht an, das Spirillum als Erreger, der eiterigen Pleuropericarditis zu bezeichnen. Es fand sich als einziger Mikroorganismus bei dem akut verlaufenen Prozeß; bei mehr chronischem Verlauf hätte man an ein Zugrundegehen der ursprünglichen Erreger und eine nachträgliche Ansiedelung saprophytischer Keime denken können. Dem würde allerdings auch das kulturelle Verhalten des Spirillums widersprechen, dessen Ansprüche an den Nährboden und Wachstumsoptimum bei 37° C vielmehr auf einen echt parasitischen Keim hindeuten.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Oberstabsarzt Dr. Kamen, bin ich für die Ueberlassung des Materiales und die Herstellung der Mikrophotogramme zu wärmstem Danke verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Typhusbacillen in dem Wasser eines Hausbrunnens.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Haupt- und Residenzstadt Budapest. Leiter: Doz. Dr. B. Vas.]

Von Dr. **Edmund Strösszner,** I. Assistenzarzt.

Wie die bisherigen Erfahrungen und Publikationen zeigten, ist der einwandsfreie Nachweis des Typhusbacillus im Wasser nur in wenigen Fällen gelungen, denn die zahlreichen vor dem Bekanntwerden der Agglutination und der Pfeifferschen Reaktion publizierten diesbezüglichen positiven Befunde müssen wir nach dem heutigen Stande der Diagnose des Typhusbacillus mit der größten Skepsis entgegennehmen. Lösener[1]) züchtete 1895 aus dem Berliner Leitungswasser einen Mikroorganismus, der alle die damals bekannten Charakteristika des Typhusbacillus besaß und nachträglich mittelst der Pfeifferschen Reaktion als solcher bestätigt wurde. Lösener war also der erste, der im Wasser den Typhusbacillus, jeden Zweifel ausschließend, nachgewiesen hat.

---

1) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XI. 1895.

E. H. Hankin[1]) publizierte dann 1899 den Befund von typischen Typhusbacillen im Wasser, die die Immunitätsreaktion gaben.

In demselben Jahre erschien die Arbeit von Kübler und F. Neufeld[2]), die in einem Brunnen „das Vorhandensein von Typhuskeimen“ nachwiesen. Der infizierte Brunnen war hier die Ursache einer Typhusepidemie in einem Gehöfte.

1901 gelang es B. Fischer und G. Flatau[3]), aus einem Brunnen bei Rellingen in Schleswig-Holstein Bacillen zu züchten, „die allen Anforderungen entsprachen, die man in diagnostischer Hinsicht an den Typhusbacillus zu stellen pflegt“.

Die neuesten positiven Befunde stammen von Tavel[4]), der aus dem Wasserleitungswasser zu Olten, ferner von H. Bonhoff[5]), der aus einem Brunnenwasser des Dorfes Caldern bei Marburg Typhusbacillen züchtete, und endlich von Jaksch und Rau[6]), die in drei Proben des Prager Leitungswassers virulente Typhusbacillen nachwiesen.

Bei uns war Genersich[7]) der erste, der anläßlich der Typhusepidemie in Pécs aus dem Leitungswasser Bakterien züchtete, die alle kulturellen Eigenschaften des Typhusbacillus hatten und von dem Blute Typhuskranker und immunisierter Meerschweinchen agglutiniert wurden.

Vor kurzem (Febr. 1904) publizierte D. Konradi (Centralblatt f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1904. No. 5) den Befund von Typhusbacillen im Brunnenwasser aus einer Fabrikniederlage in Nagyszeben. Sowohl morphologisch und biologisch als auch durch den positiven Ausfall der Gruber-Widalschen und Pfeifferschen Reaktion ist von ihm der sichere Beweis für die Authentizität der Bacillen erbracht worden.

Außer diesen mir im Original zur Verfügung stehenden Publikationen fand ich noch in einem kurzen Referat des Centralbl. f. Bakt. etc. (1900) die Angabe, daß M. Hanriot (Annales d'hyg. publique et de med. légale, No. 5) im Wasser der Vanne Typhuserreger nachgewiesen hat; wenn Chantemesse in dem Pariser Leitungswasser mit Regelmäßigkeit Typhusbacillen nachweisen konnte, so ist dem, sagt Neufeld[8]), mit einigem Zweifel zu begegnen. Noch finde ich bei Gärtner[9]) die Notiz, daß es Miquel (1899) gelang, aus dem Reservoir von Montrouge Typhusbacillen zu züchten, ferner wurden im Val de Grâce (1899) aus Wasserproben zweier mit Vannewasser versorgten Kasernen Typhusbacillen gezüchtet.

Wenn auch diese meine Angaben vielleicht nicht ganz Anspruch auf Vollkommenheit haben, so können wir doch annehmen, daß der von jedem Einwand freie Nachweis des Typhusbacillus im Trinkwasser in verhältnismäßig sehr wenigen Fällen gelang.

Mit dem Studium des Nachweises des Typhusbacillus im Wasser beschäftigt, bot sich mir vor kurzem Gelegenheit, das Wasser eines Brunnens zu untersuchen, das zufolge der sich darbietenden Verhältnisse,

---

1) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXVI. 1899. p. 554.
2) Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. XXXI. 1899.
3) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXIX. No. 8.
4) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXXIII. Orig. p. 166.
5) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXXIII. Orig. 1903. p. 461.
6) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXXVI. 1904. No. 4. Juli.
7) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXVII. 1900. p. 246.
8) Handbuch der path. Mikroorganismen. Kolle und Wassermann. Bd. II.
9) Quellen in Beziehung zum Grundwasser und Typhus.

die weiter unten näher beschrieben sind, den Verdacht erweckte, daß es mit Typhusbacillen infiziert sei.

Die Verhältnisse waren kurz folgende:

In einem Hause der der Hauptstadt benachbarten Stadt Vácz (Waitzen) erkrankten — ohne daß irgendwo sonst in der Stadt während der ganzen Zeit auch nur ein einziger Typhusfall vorgekommen wäre — im Laufe von ungefähr 5 Wochen sämtliche Angehörige der daselbst wohnenden Familie Pr. mit Ausnahme der Mutter der Kinder. Zuerst erkrankte — wie der behandelnde Arzt Dr. Vadas mir mitzuteilen die Güte hatte — anfangs April die Tochter[1]), dann Mitte April der jüngere Sohn und in den ersten Tagen des Monates Mai der ältere.

Die Familie trank Wasser einzig und allein aus dem Hausbrunnen, der in einem gedüngten Garten liegt. Er ist ein gewöhnlicher Kesselbrunnen, der, wie ich beim Lokalaugenschein konstatieren konnte, keine wasserdichte Wandung hatte und dessen „bedeckende“ Steinplatte ein gar seltsames Aussehen besaß. Erstens deckte der Stein nicht überall den Brunnen an dem Rande zu, indem sich zahlreiche Lücken fanden, durch die Verunreinigungen von der Erdoberfläche ohne weiters in den Brunnen gelangen konnten, zweitens zeigte die Steinplatte selbst mächtige, bis auf 10—12 cm klaffende Risse, also bequeme Eingangspforten für Staub, Schmutz und sonstige Noxen.

Der Brunnen selbst lieferte nur wenig Wasser und überstieg die Höhe der Wassersäule im Brunnen nie 25 cm. War also dieser unhygienische Zustand des Brunnens an sich schon geeignet, den Verdacht zu erregen, daß von oben und seitwärts infiziertes Material hineingelangen kann (und sicherlich auch gelangte), so bestärkte mich in dieser Ansicht noch der Umstand, daß das Nachtgeschirr der Kranken — wie ich glaube mit Ausnahme des Dritterkrankten — beim Brunnen ausgespült und das Spülwasser in die Umgebung des Brunnens geschüttet wurde. Daß hiebei eine direkte Einimpfung von Typhusbacillen in das Brunnenwasser bei obigen Verhältnissen möglich ist, steht außer Zweifel. Kann doch z. B. der Urin von Typhuskranken und Typhusrekonvaleszenten nach Petruschky noch längere Zeit hindurch Typhusbacillen beherbergen.

Des weiteren befand sich in der Nähe des Brunnens die Mistgrube und gleich daneben der Abort, resp. eine gewöhnliche offene Senkgrube, die ebenfalls nicht wasserdicht gebaut ist, so daß von hier der Grubeninhalt in den benachbarten Boden resp. in den tiefer gelegenen Brunnen gelangen kann. Unter solchen Umständen lag es auf der Hand, die Ursache der Typhuserkrankungen in diesem Brunnenwasser zu suchen. Daß unsere Annahme eine richtige war, hat die Untersuchung des Wassers über jeden Zweifel klar und deutlich gezeigt.

Schon bei Entnahme einer Wasserprobe, die erst anfangs Juni geschah, zeigte sich das Wasser trüb. Die chemische Untersuchung, die Herr Dr. Ernyei vom hauptstädtischen chemischen Institute auf meine Bitte durchführte, wofür ich ihm an dieser Stelle herzlichst danke, ergab folgendes Resultat: „Feste Bestandteile 1354,0 mg pro Liter, Chlor 90,2 mg pro Liter (!!), Sauerstoff zur Oxydation der organischen Stoffe 2,4 mg, Salpetersäure 193,6 mg pro Liter, salpetrige Säure in Spuren und endlich Ammoniak 0,2 mg.

---

[1]) Bei ihr traten meningitische Symptome auf. Exit. let.

Gutachten: Es handelt sich um ein Wasser, das mit Fäulnisprodukten infiziert ist."

Daß aber dieses Wasser ein direkt infektiöses ist, wurde durch die bakteriologische Untersuchung bewiesen. Da in mir nämlich schon von Anfang an der Verdacht erweckt wurde, daß das Wasser mit typhös infiziertem Material verunreinigt ist, ging ich sofort daran, nach dieser Richtung hin meine Untersuchungen anzustellen. Die von Hoffmann und Ficker[1]) erst vor kurzem veröffentlichte neue Methode des Nachweises der Typhusbacillen im Wasser kam mir geradezu gelegen, im vorliegenden Falle sie anzuwenden.

Sie besteht in Kürze in folgendem: Man mißt 900 ccm von dem zu untersuchenden Wasser in einem Kolben ab, dann gibt man eine Lösung von 10 g Nutrose in 80 ccm Aq. dest. steril. zu einer frisch bereiteten, auf 55—60° C abgekühlten Lösung von 5 g Koffein in 20 ccm Aq. dest. steril. Die Mischung dieser beiden Lösungen setzt man alsdann zur Wassermenge zu und gibt langsam 10 ccm einer soeben frisch bereiteten Lösung von 0,1 g Kristallviolett Höchst auf 100 ccm destill. Wasser hinein. Der Kolben kommt dann auf 12—13 Stunden in den Brutschrank (37° C).

Das Wesen dieser Methode besteht eben darin, daß Koffein und Kristallviolett unter diesen Bedingungen die Wasserkeime in ihrer Entwickelung zurückhalten, während Typhusbacillen sich in dieser Lösung vermehren (siehe das Original).

Genau nach diesen Vorschriften behandelte ich nun das obige Brunnenwasser.

Nach 12 Stunden beschickte ich mit dem nach obiger Methode behandelten Wasser mehrere Schalen von Drigalski-Conradischem (Milchzucker-, Nutrose-, Lackmus-, Kristallviolett) Agar, auf dem sich nach 24 Stunden reichliche Kulturentwickelung zeigte.

Die mit absoluter Sicherheit nach ihrem Aussehen nicht als typhusverdächtig zu bezeichnenden Kolonieen wurden vorläufig des weiteren nicht beachtet, sondern nur jene, die eine blaue Farbe, ein glasiges und tautropfenähnliches Aussehen hatten, wurden weiter untersucht und abgeimpft. Dieselben zeigten, in Bouillon geimpft, in der sie eine gleichmäßige starke Färbung hervorrufen, lebhafte Bewegung, verflüssigten Gelatine nicht; in Peptonwasser und Bouillon trat keine Indolbildung auf, in Traubenzuckerbouillon keine Gasbildung, der Rothsche Neutralrotagar zeigte keine Veränderung, Milch wurde selbst nach mehrtägiger Beobachtung nicht koaguliert, in Petruschkyscher Lackmusmolke bildete sich nicht mehr als 0,2 Proz. $^1/_{10}$ Normalsäure.

Auch den neuestens von Endo[2]) empfohlenen elektiven Milchzucker-, Fuchsin-, Natriumsulfit-Agar zog ich in den Bereich der Reaktionen; es wuchsen auf ihm nach Impfung der typhusverdächtigen Kolonieen die charakteristischen runden, farblosen, glasig aussehenden, den Agar nicht entfärbenden Kolonien[3]).

---

1) Hygienische Rundschau. Bd. XIV. No. 1. Archiv f. Hyg. Bd. XLIX. Heft 3.

2) Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XXXV. 1903. No. 1.

3) Guido A. Ruata (Centralblatt f. Bakt. Bd. XXXVI. No. 4) schreibt wohl dem Endoschen Verfahren vom Gesichtspunkte der Differentialdiagnose nur einen sehr relativen Wert zu, während es Clauditz (Hyg. Rundschau. Bd. XIV. 1904. No. 15) bei dem Anreicherungsverfahren mit Koffein nach Hoffmann und Ficker besonders empfiehlt. Uns hat der „Endo" hier treffliche Dienste geleistet. Vereint mit Drigalski-Conradi halten auch wir ihn für sehr wertvoll.

Bemerken müssen wir, daß wir zum Vergleich all dieser kulturellen Reaktionen dieselben parallel mit typischen Typhusbacillen und Bact. coli commune anstellten.

Was die Färbbarkeit der aus dem Wasser gezüchteten Bacillen betrifft, so ließen sie sich nach Gram nicht färben.

Es fehlte uns aber noch das Agglutinationsphänomen und der Pfeiffersche Versuch, um die Bacillen als Typhusbacillen ansprechen zu können.

Ich immunisierte zu diesem Zwecke Kaninchen mit Typhusbacillen (20 Minuten auf 56° C erwärmt) und zwar, gestützt auf die Arbeit von Bruns und Kayser (Zeitschrift f. Hyg. No. 43) derart, daß ich ein „mittelstarkes Immunserum“ (Aggl. M. 1 : 5000) erhielt, daß nach Bruns und Kayser zur raschen Bestimmung von Bakterien am geeignetsten ist, da hochwertige Immunsera nicht nur die Bakterien agglutinieren, mit welchen die Immunisierung vorgenommen wurde, sondern auch die diesen nahestehenden Bakterien.

Das Serum dieses Kaninchens agglutinierte die aus dem Wasser gezüchteten Bacillen in einem Verhältnis bis zu 1 : 4000, ebenso wie den in unserem Laboratorium gezüchteten Typhusstamm.

Als Gegenprobe hiezu immunisierte ich nun, wie dies auch Jaksch tat, mit den aus dem Wasser gezüchteten Bacillen ein Kaninchen, und zwar injizierte ich subkutan je dreimal eine Agarkultur, 20 Minuten lang auf 56° C erwärmt, in Bouillon aufgeschwemmt; dann untersuchte ich, wie dieses Serum gegenüber authentischen Typhusstämmen sich verhielt. Es zeigte sich, daß es Typhusbacillen (Král) selbst noch bei 1 : 3500 agglutiniert. Die Kontrollprobe mit Coli (Král) blieb negativ.

Von der Agglutinationsprobe mit dem Blute von Typhuspatienten sah ich ab, da, wie dies F. Neufeld im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Wassermann und Kolle ausführt, das Blut von Typhuspatienten nicht selten auch gegenüber gewissen Arten von Bact. coli eine erhebliche Agglutinationswirkung besitzt, so daß eine derartig angestellte Probe, gleichviel welche Verdünnung zur Anwendung kommt, niemals als einwandfrei anzusehen ist[1].

Zum Schlusse stellte ich nun den Pfeifferschen Versuch an.

Zu diesem Zwecke verwendete ich 20 mg spezifisches Immunserum und injizierte es vereint mit einer Oese der aus dem Wasser gezüchteten Bacillen (12-stündige Kultur), aufgeschwemmt in 1 ccm Bouillon, intraperitoneal einem Meerschweinchen. Mittelst Glaskapillaren entnahm ich nun Proben und es zeigten sich nach 25—30 Minuten die Bacillen unbeweglich, „aufgelöst“ in Körnchen verwandelt. Im Kontrolltiere sind noch nach 1½ Stunden zahlreiche bewegliche Bacillen zu finden. Dieses Tier ging nach 32 Stunden zu Grunde, obiges blieb am Leben.

Nach all dem Vorgebrachten unterliegt es also gar keinem Zweifel, daß die aus dem Wasser gezüchteten Bacillen wirkliche Typhusbacillen sind.

Auf welchem Wege die Infektion des Brunnens geschah, dürfte nicht schwer sein zu erklären. Die Nähe der Mistgrube, des Abtrittes, das Ausspülen der Nachtgeschirre am Brunnen, all das sind Umstände, die hierbei in Betracht kommen. Ich glaube, daß eine fortwährende stetige Infektion des Brunnens[1] im Laufe der Krankheitsfälle stattgefunden hat und zwar dürfte sie mit dem Harn (gerade so wie in dem Falle von Kübler und Neufeld, und Konradi) zustande gekommen sein.

---

[1] Auch R. Paltauf und O. Lentz sind dieser Ansicht.

Ob daneben nicht auch eine Infektion durch Hineinsickern infizierten Materials von seite des Abtrittes, der Mistgrube etc. in den Brunnen geschah, dessen Wände ja absolut nicht den Anforderungen eines hygienisch gebauten Brunnens entsprachen, ist nicht ganz von der Hand zu weisen, umsoweniger, als auch Bact. coli nachgewiesen werden konnte. Bei dem enormen Reichtum des Wassers an Typhusbacillen möchte ich eher einer Infektion durch den Urin das Wort reden.

Auf welche Weise nun der Ersterkrankte Typhus acquirierte, konnte ich trotz eingehender Suche danach nicht eruieren. Sicherlich ist es ein Glück für die Stadt gewesen, daß einzig und allein die Bewohner des Hauses das Wasser des Brunnens tranken und nicht auch die Nachbarsleute den Brunnen benutzten; sicherlich wäre diese kleine Hausepidemie nicht beschränkt geblieben, sondern hätte ein explosionsartiges Auftreten des Typhus zur Folge gehabt.

Als Tatsache möchte ich noch konstatieren, daß die Untersuchung des Brunnenwassers ungefähr 4—5 Wochen nach der letzten Erkrankung geschah, und aus dieser Zeit der positive Befund stammt. Die Entleerungen der Kranken wurden angeblich nur anläßlich der letzten (dritten) Typhuserkrankung in einer separaten Grube mit Kalkmilch desinfiziert.

Nachdruck verboten.

Zur Charakterisierung der Hogcholeragruppe.

[Aus dem kgl. Institute für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von Dr. **Henry Smidt**, Assistenten der bakteriologischen Abteilung.

Aus der großen Gruppe der coliähnlichen Bakterien ist im Laufe der Zeit eine Reihe von Arten abgetrennt worden, die zum Teil erhebliche Bedeutung für die menschliche Pathologie beanspruchen, so vor allem der Shiga-Krusesche Dysenteriebacillus, ferner der Schweinepestbacillus (Salmon, Th. Smith), der Bacillus enteritidis (Gaertner) und die diesem nahestehenden anderen bei der gastro-intestinalen Form der Fleischvergiftung gefundenen Bakterien, der Loefflersche Mäusetyphusbacillus und die Schottmüllerschen Paratyphusbacillen. Die intimen verwandtschaftlichen Beziehungen, die zwischen einzelnen von ihnen bestehen, und die sich nicht nur in den morphologischen und biologischen Eigenschaften, sondern auch in dem Verhalten einem agglutinierenden Serum gegenüber äußern, haben in neuerer Zeit bereits eine Reihe von Untersuchungen veranlaßt, welche die Frage der eventuellen Identität mehrerer bisher als verschieden angesehener Arten zum Gegenstand haben.

Auf Grund seiner Agglutinationsversuche teilt Trautmann[2] die

---

[1] Er wurde natürlich seitdem gesperrt.

[2] Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 139.

Erreger des Paratyphus und der Fleischvergiftung in 5 Gruppen, die er unter dem Namen des Bacillus paratyphosus zusammengefaßt wissen will. Seine 5 Gruppen entsprechen den beiden von Schottmüller zuerst differenzierten Typen des Paratyphusbacillus und den zwei von de Nobele auf Grund der Agglutination aufgestellten Arten der Fleischvergifter, die dieser als Typus I Bacillus enteritidis Gaertner und Typus II Bacillus Aertryck bezeichnet hat; als 5. Gruppe rechnet er den von Basenau gefundenen Bacillus morbificans bovis dazu. Ein mit einem Stamm erzeugtes Serum agglutinierte die Bakterien seiner Gruppe am stärksten, die Glieder der übrigen Gruppen je nach ihrer größeren oder geringeren Verwandtschaft mehr oder weniger hoch mit. Als besonders interessant fand er, daß die verschiedenen Paratyphusstämme des Typus B danach am nächsten seiner Gruppe b der Fleischvergifter (de Nobeles Typus II) stehen, andererseits der Typus A der Paratyphusbacillen zu der anderen Gruppe, deren typischer Vertreter der Gaertnersche Bacillus ist, die größte Verwandtschaft zu haben seinen.

Schottmüller[1]) hält den Typus B der Paratyphusbacillen oder, wie er ihn genannt wissen will, den Bacillus paratyphi alcalifaciens für identisch mit dem Enteritis-Bacillus sowohl auf Grund klinischer Erwägungen als besonders deshalb, weil er mit dem Serum Paratyphuskranker Enteritis- ebenso hoch wie Paratyphusbacillen agglutinieren konnte, bei beiden sich hitzebeständige Giftstoffe nachweisen ließen, und es ihm endlich gelang, auch durch Verfütterung von Paratyphusbacillen weiße Mäuse zu töten.

Von der interessanten Mitteilung Trommsdorffs[2]) ausgehend, daß im Menschendarme Mäusetyphusbacillen bei gastro-intestinalen Erscheinungen gefunden wurden, hat ferner Bonhoff[3]) die agglutinative und bakterizide Wirkung mehrerer mit Mäusetyphus- und Paratyphusbacillen erzeugter Sera an diesen und verwandten Stämmen geprüft und kommt zu dem Schlusse, daß sich der Gaertnersche Enteritis-, der Paratyphus- und der Mäusetyphusbacillus weder biologisch noch durch agglutinatorische und bakteriolytische Untersuchungsmethoden differenzieren lassen, und daß allen dreien, falls sich durch weitere Untersuchungen nicht noch wesentliche Unterschiede in ihrem pathogenen Verhalten herausstellen sollten, nach dem Gesetze der Nomenklatur der Name: Bacillus enteritidis (Gaertner) gebühre.

In den Bereich derartiger Untersuchungen ist der von Salmon und Smith 1885 zuerst beschriebene und von Th. Smith in einer Reihe weiterer Arbeiten genau untersuchte Erreger der Schweinepest, der Bacillus cholerae suum oder, wie er nach Kruse jetzt allgemein genannt wird, der Bacillus suipestifer bisher nur vereinzelt gezogen worden. De Nobele[4]) fand, daß Schweinepestbacillen durch ein mit dem Gaertnerschen Bacillus gewonnenes Serum gar nicht, durch ein solches des Bacillus Aertryck dagegen relativ hoch mitagglutiniert wurden. Deshalb hat er, wie van Ermengem in seiner Monographie über die Fleischvergiftung (Handbuch von Kolle und Wassermann) in einer Anmerkung erwähnt, den Schweinepestbacillus auch geradezu als den typischen Vertreter der nach dem

---

1) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 7 u. 8.
2) Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 2092.
3) Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904. p. 222.
4) Zeitschr. f. Hyg. 1902. p. 455.

Bacillus Aertryck benannten Gruppe vorgeschlagen. Die nahe Verwandtschaft des Mäusetyphus- und Enteritis- mit dem Schweinepestbacillus geht auch schon daraus hervor, daß Th. Smith alle drei unter dem Namen der Hogcholeragruppe zusammenfaßt.

Es lag demnach nahe, zu untersuchen, wie sich in Bezug auf Agglutination Schweinepestbacillen zu Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen verhalten; über einige diesbezügliche, auf Anregung und mit gütiger Unterstützung von Herrn Prof. M. Neisser angestellte Versuche möchte ich im folgenden berichten.

Zur Verfügung standen mir 4 Schweinepeststämme der prüfungstechnischen Abteilung des Institutes, 2 Paratyphusstämme (A und B), die ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Schottmüller verdanke, ein Mäusetyphusstamm, den mir Herr Geh. Rat Prof. Loeffler gütigst übersandt hat, ein von Král bezogener Stamm des Bacillus enteritidis (Gaertner) und mehrere Stämme der Sammlung unseres Institutes, darunter je ein weiterer Paratyphusbacillus vom Typus A und B. Die beiden Paratyphen B, die 4 Schweinepest-, die Mäusetyphus- und die Enteritidis-Kultur zeigten weder morphologisch noch kulturell irgendwelche qualitativen Differenzen und stimmten insbesondere in folgenden Eigenschaften überein: Fehlen der Indolbildung, Vergärung des Traubenzuckers, während Milchzucker nicht angegriffen wurde, und dementsprechend die Milch nicht gerann und auf Drygalski-Agar blaue Kolonieen entstanden; nachträgliche Bläuung der anfangs leicht geröteten Lackmusmolke und Aufhellung der Milch bei längerem Stehen durch spätere Alkalibildung; auf Malachitgrünagar (1 : 4000) üppiges Wachstum und deutliche Entfärbung bereits nach 24 Stunden.

Zunächst wurden nun mit zwei polyvalenten Schweinepestseris, welche die Höchster Farbwerke gütigst zur Verfügung gestellt hatten, Agglutinationsversuche angestellt.

Die dabei angewandte Methodik entsprach dem schon seit langer Zeit bei uns üblichen und von Pröscher[1]) beschriebenen Verfahren, wobei je nach dem zu erwartenden Titer des Serums mit einer Verdünnung des Serums von $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$ begonnen wurde. Zur orientierenden Einstellung eines Serums wurde die Agglutination makroskopisch im Reagenzröhrchen nach 24-stündigem Stehen im Brütschrank (da mit Formol abgetötete Kulturen verwandt wurden, war eine so lange Beobachtungsdauer möglich), während den feineren Einstellungen meist die mikroskopische Untersuchung mit schwacher Vergrößerung im Blockschälchen nach 2 Stunden zu Grunde gelegt wurde. (Beide Methoden ergaben bei Parallelversuchen übrigens fast immer übereinstimmende Resultate.) Als Agglutination im Reagenzglase galt eine deutliche Sedimentbildung unter Klärung der darüberstehenden Flüssigkeit, im Blockschälchen unzweifelhafte Häufchenbildung; undeutliche und zweifelhafte Agglutination wurde nicht mehr gerechnet.

Auf diese Weise untersucht und beurteilt, ergaben die beiden polyvalenten Sera folgende Agglutinationswerte:

	Schw.-Pest I	Schw.-Pest II	Schw.-P. III	Schw.-P. IV	Parat. B I	Parat. B II	Mäusetyphus
Serum A	1 : 8000	—	—	—	1 : 16 000	—	1 : 8000
„ B	1 : 3200	1 : 6400	1 : 6400	1 : 6400	1 : 3200	1 : 3200	1 : 6400

	Bac. enteritidis	Parat. A I	Paratyph. A II	Dysenterie	Coli	Typhus
Serum A	1 : 40	1 : 40	—	—	1 : 20	1 : 40
„ B	1 : 20	1 : 40	1 : 20	1 : 10	1 : 10	1 : 10

---

1) Diese Zeitschr. 1902. No. 9.

Man sieht, daß durch beide Sera Schweinepest-, Paratyphus B- und Mäusetyphusbacillen sehr hoch, aber alle fast gleichmäßig, Paratyphus A-, Coli-, Dysenterie-, Enteritis- und Typhusbacillen nicht stärker agglutiniert werden, als es schon durch normales Serum der Fall sein kann (auf das Verhalten des Enteritidis-Stammes werde ich weiter unten noch zurückkommen). Es scheint danach polyvalentes Schweinepestserum vorzüglich und, wie wir sehen werden, unter Umständen besser als monovalentes Serum geeignet zu sein, einen unbekannten, coliähnlichen Bacillus als zur Gruppe der von diesem Serum hochagglutinierten Stämme gehörig zu charakterisieren; dagegen läßt es eine Unterscheidung der einzelnen Glieder dieser Gruppe nicht zu, und ist zur Beurteilung der Frage, inwieweit diese untereinander etwa identisch sind, vollends nicht zu verwenden, da es ja mit verschiedenen Schweinepeststämmen hergestellt ist, die untereinander vielleicht nicht weniger verschieden waren als die, deren Agglutinationsfähigkeit geprüft werden soll.

Um letzterer Frage näherzutreten, bedarf es monovalenter Sera. Zur Gewinnung dieser wurden Kaninchen in 6—8-tägigen Pausen mit steigenden Mengen 1 Stunde lang bei 60° C abgetöteter Bacillen- und Agarkulturen intravenös injiziert. Dabei zeigte sich, daß mit sehr geringen Mengen ($^{1}{}_{2}$ ccm Bouillonkultur) angefangen werden mußte, sollten die Tiere nicht akut zu Grunde gehen. Besonders auf die erste Injektion reagierten die Kaninchen mit mehr oder weniger starkem Kollaps und heftigen, aber rasch vorübergehenden Durchfällen, Wirkungen, die wohl auf Rechnung der bei dieser Gruppe nachgewiesenen (hitzebeständigen) Giftstoffe zu setzen sind. Am empfindlichsten erwiesen sich die Versuchstiere gegenüber den Paratyphusbacillen und es gelang erst nach mehreren mißglückten Versuchen, damit ein hochwertiges Serum zu erzielen. Glücklicherweise genügten schon 2 Injektionen ($^1/_2$ und 1 ccm Bouillonkultur) für einen fast ebenso hohen Titer, wie er bei den mit Mäusetyphus- und Schweinepestbacillen immunisierten Tieren erst nach 4 bezw. 5 Injektionen (bis $^1/_2$ bezw. 1 Agarkultur) erreicht wurde. Diese Beobachtung stimmt mit den Erfahrungen von Th. Smith1) überein, der fand, daß, je virulenter der injizierte Stamm gegen das Versuchstier war, desto höher der Agglutinationstiter des Serums wurde.

Etwa 8 Tage nach der letzten Injektion wurden die Kaninchen entblutet und das Serum mit 0,5 Proz. Karbolsäure im Eisschrank aufbewahrt.

Die Resultate der Agglutination der mit den Stämmen: Schweinepest I, Paratyphus B I und Mäusetyphus gewonnenen monovalenten Sera enthält die folgende Tabelle:

	Schw.-P. I	Schw.-P. II	Schw.-P. III	Schw.-P. IV	Parat. A I	Parat. A II	Parat. B I	Parat. B II	Mäusetyphus
Schweinepestserum	**1:32 000**	1:800	1:8000	1:16 000	<1:20	—	1:16 000	1:8000	1:8000
Paratyphusserum2)	1:4000	—	—	—	1:80	—	**1:6000**	—	—
Mäusetyphusserum	1:1600	1:200	1:3200	1:3200	<1:20	<1:20	1:8000	1:6400	**1:8000**

---

1) Med. res. Vol. IX. 1903. No. 3.

2) Aus äußeren Gründen konnte dieses Serum leider nur auf die verzeichneten 3 Stämme austitriert werden; es kam ja auch besonders darauf an, seine Agglutinationskraft gegenüber den Schweinepestbacillen festzustellen. Daß sein Titer auch gegen Mäusetyphusbacillen ein hoher gewesen sein würde, glaube ich nach den Untersuchungen Bonhoffs annehmen zu können.

Daß Typhusbacillen, ein Coli-Stamm und die Shiga-Kruseschen Dysenteriebacillen, deren Aggutinationswerte hier nicht mit aufgeführt sind, durch die monovalenten Sera ebensowenig wie durch die polyvalenten (nämlich höchstens $^1/_{80}$) agglutiniert wurden, entspricht allen sonstigen Erfahrungen; auffallen kann es nur, daß auch diese Sera gegenüber dem Gaertnerschen Bacillus keinen höheren Titer besaßen. Es stimmt diese Beobachtung zwar mit denen Trautmanns, steht aber im Widerspruch mit den Resultaten von Bonhoff und Schottmüller, es sei denn, daß man annimmt, daß der Enteritidis-Stamm letzterer dem Typus II, der von mir verwandte dem Typus I angehörte, was deshalb ja sehr leicht möglich wäre, weil man unter dem Namen des Gaertnerschen Bacillus bisher meistens alle zu dieser Gruppe der Fleischvergifter gehörigen Stämme zusammenzufassen pflegte. (Ob man überhaupt berechtigt ist, allein auf Grund der Agglutination eine Trennung in 2 Typen vorzunehmen, scheint mir eine noch offene Frage zu sein. Schottmüller hat sich bekanntlich dagegen ausgesprochen [1]).)

Gegenüber den von ihnen hochagglutinierten Stämmen verhalten sich, wie aus der Tabelle hervorgeht, die monovalenten Sera in mehrfacher Beziehung anders als die polyvalenten. Zunächst wird natürlich jedesmal der „homologe“ Stamm am höchsten, etwas weniger und nicht so gleichmäßig der „fremde“ Stamm agglutiniert. Unter den Schweinepeststämmen fällt dabei besonders der Stamm II auf, der den auf ihn geprüften Seris gegenüber einen wesentlich niedrigeren Titer zeigt, nicht nur als die 3 anderen Schweinepest-, sondern auch als die übrigen — wie man erwarten sollte — noch ferner stehenden Stämme. Eine analoge Beobachtung hat de Nobele gemacht, als er gegen drei monovalente Schweinepestsera 9 verschiedene Stämme prüfte, die alle Charakteristica des Salmon-Smithschen Bacillus besaßen, aber dennoch in sehr verschiedener Höhe agglutiniert wurden.

(Zur Agglutination benutzte ich immer durch Formol abgetötete Bakterien. Ein Parallelversuch mit Bouillonkulturen, die durch 2-stündiges Erhitzen auf 60° abgetötet waren, ergab merkwürdigerweise, daß diese Bakterien ihre Agglutinierbarkeit völlig verloren hatten, eine Tatsache, die in Kontrollversuchen sich immer wieder bestätigte und um so auffallender ist, als z. B. Typhusbacillen erst bei höheren Temperaturen ihre Agglutinierbarkeit einbüßen. Ob es sich dabei etwa um Abstoßung von Rezeptoren handelt, die dann in der Flüssigkeit das Agglutinin binden, soll hier noch weiter untersucht werden. Vielleicht haben wir in dieser Eigenschaft ein weiteres Charakteristikum der Hogcholeragruppe zu sehen.)

Des weiteren habe ich mit meinen Seris, wie Bonhoff mit seinem Mäusetyphus- und Paratyphusserum, Absorptionsversuche gemacht, bin dabei aber nicht zu eindeutigen Resultaten gelangt. Bonhoff absorbierte sein Serum durch mehrmaliges Zusetzen von Bakterien völlig und fand, daß der Abguß nun auch nicht mehr auf die andere Bakterienart agglutinierend wirkte; er schließt daraus auf eine völlige Rezeptorengleichheit des Mäusetyphus- und Paratyphusbacillus. Ich habe meine Versuche derart gemacht, daß nur ein Teil der Agglutinationskraft des monovalenten Schweinepestserums durch den fremden Stamm absorbiert, dann zentrifugiert und nun der Abguß auf den homologen und die fremden Stämme geprüft wurde. Dabei ergab sich in der einen Versuchsreihe, daß der Agglutinationstiter für den homologen Stamm viel weniger stark abgenommen hatte als für denjenigen, mit dem absorbiert worden war. In einem anderen Versuche war dagegen für den Absorptionsstamm der Titer am höchsten geblieben. Leider konnten diese Versuche, deren Fortsetzung zur Aufklärung der auffälligen Resultate notwendig erscheint, aus äußeren Gründen bisher nicht wiederholt werden. Wenn also überhaupt aus diesen Resultaten ein Schluß gezogen werden darf, so würden sie ebenso wie die Agglutinationstiter der polyvalenten Sera dafür sprechen, daß Schweinepest- mit Mäusetyphus- und Paratyphusbacillen eine mehr oder weniger große Zahl gemeinsamer „Grundrezeptoren“ (Lipstein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903. No. 5) haben, jeder Stamm aber nebenher seine ihm eigentümlichen „Partialrezeptoren“ besitzt.

---

[1] l. c. Anm.

Heilversuche, die mit Höchster (polyvalentem) Schweinepestserum an Mäusen gegen subkutan injizierte Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen angestellt wurden, haben ebensowenig zu einem befriedigenden Resultate geführt wie die analogen Versuche Fischers mit Enteritis- und Paratyphus- und Bonhoffs mit Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen an Meerschweinchen. Eine gewisse Verzögerung des durch Mäusetyphusbacillen ($^1/_{1000}$ ccm Bouillonkultur) erfolgten Todes ließ sich allerdings durch Schweinepestserum (0,25 ccm) erreichen (wobei die Kontrolltiere die gleiche Menge normalen Pferdeserums erhalten hatten). Nebenbei möchte ich bemerken, daß es auch mir mehrfach gelungen ist, weiße Mäuse durch Verfütterung von Paratyphusbacillen zu töten.

Als weitere Stütze für die enge Verwandtschaft zwischen Schweinepest- und Paratyphusbacillen möchte ich die Befunde an drei Paratyphuskranken erwähnen, deren Serum dem Institut zur Anstellung der Widalschen Reaktion übersandt wurde. Die Untersuchung gegen Typhusbacillen ergab in jedem Falle, schon bei 1 : 20, negative Reaktion, während Paratyphus- und Schweinepestbacillen zum Teil sehr hoch agglutiniert wurden, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist:

	P., 34 Jahre, erkrankt ca. am 3. VIII.			C., 18 Jahre, erkrankt am 10. VIII.		N., 6 Jahre, erkrankt am 15. VIII.	
	17. VIII.	23. VIII.	30. VIII.	17. VIII.	30. VIII.	20. VIII.	30. VIII.
Paratyphusbacillus B	1 : 160	1 : 160	1 : 400	1 : 100	> 1 : 3200	1 : 320	> 1 : 3200
Schweinepestbacillus	—	—	1 : 50	—	> 1 : 3200	—	1 : 800

Auf Anraten von Herrn Prof. M. Neisser erhielten die beiden ersten Patienten Injektionen von polyvalentem Schweinepestserum, nachdem dieses auf Sterilität geprüft und durch Selbstversuch als für Gesunde völlig unschädlich gefunden worden war, und zwar 5 bezw. 10 ccm ein- und zweimal. Eine deutliche Beeinflussung des Krankheitsverlaufs ließ sich nicht konstatieren. Weitere Injektionen unterblieben, weil die Patienten inzwischen abgefiebert hatten. Immerhin wären derartige Injektionen bei geeigneten Fällen eventuell zu wiederholen, da das Serum im Tierversuch eine gewisse Wirkung erkennen läßt und für den Menschen unschädlich ist.

Das Resultat dieser in vielfacher Beziehung nur orientierenden

Versuche kann dahin zusammengefaßt werden, daß es im Einzelfalle weder morphologisch noch kulturell noch durch die Agglutination oder den Tierversuch bisher gelingt, sicher zu entscheiden, ob ein Stamm als Mäusetyphus-, Paratyphus B- oder Schweinepestbacillus anzusprechen ist. Inwieweit hierbei erworbene spezifische Virulenzunterschiede in Betracht kommen, kann natürlich zunächst nicht entschieden werden, ebensowenig wie ein sicherer Zusammenhang zwischen der Krankheit Schweinepest und der Krankheit Paratyphus besteht. Jedenfalls wird man bei Paratyphusfällen mehr als bisher nach einem etwaigen Zusammenhange mit analogen Tierkrankheiten suchen müssen. Die gebräuchlichen Untersuchungsmethoden einschließlich der Agglutinationsprüfung lassen nur die Entscheidung zu, ob der betreffende Stamm überhaupt zu der großen und für die menschliche Pathologie nicht unwichtigen Gruppe der Hogcholera (Th. Smith) gehört. Es empfiehlt sich zur Feststellung dieser Zugehörigkeit die Verwendung eines polyvalenten Schweinepestserums, in welchem die Partialrezeptoren der einzelnen Stämme ihre Agglutinine mit größerer Gleichmäßigkeit finden.

Zur Namensänderung der beiden Paratyphusbacillen und des Mäusetyphusbacillus liegt solange keine Veranlassung vor, als nicht für die ganze Gruppe ein neuer Name geschaffen oder aber die Differenzierung der einzelnen Stämme untereinander ermöglicht wird.

Nachdruck verboten.

Streptothrix-Pseudotuberkulose.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Messina.]

Von Prof. **Francesco Sanfelice.**

Mit 1 Tafel.

Mit dem Namen Pseudotuberkulose hat man einige durch bestimmte Mikroorganismen hervorgerufene Knötchenkrankheiten bezeichnet, um sie von der typischen Tuberkelkrankheit, erzeugt vom Bacillus Koch, zu unterscheiden. Die ersten Formen von Pseudotuberkulose, über die Beschreibungen vorliegen, erscheinen jedoch sehr unsicher, nicht nur betreffs des ätiologischen Agens, sondern auch in Bezug auf die anatomisch-pathologischen Veränderungen. Mit der echten Tuberkulose haben sie nichts gemein als das makroskopische Aussehen der Läsion. Streng wissenschaftlich gebührt der Name Pseudotuberkulosis nur solchen Infektionen, deren Entstehen einem dem Tuberkelbacillus durch morphologische sowie durch kulturelle Eigenschaften verwandten Mikroorganismus zuzuschreiben ist, und welche andererseits ein anatomisch-pathologisches Krankheitsbild aufweisen, das dem von Kochs Bacillus herrührenden histologisch sehr ähnlich ist. Als es sich beim Studium ihrer morphologischen Besonderheiten herausstellte, daß die Bacillen der Menschentuberkulose und der Geflügeltuberkulose — seltener die ersteren und desto häufiger die zweiten — echte Verzweigungen zeigen, so war man im klaren über ihre Zusammengehörigkeit mit der Streptothricheengruppe, deren Komponenten stets als Filamentform mit echten Verzweigungen auftreten.

In der Folge reihte sich der erwähnten noch eine weitere, Tuberkelbacillen und Streptothricheen gemeinschaftliche Eigentümlichkeit an, die Säurefestigkeit. Zahlreiche säurefeste Bacillen sind schon aus früheren Forschungen und deren Beschreibung bekannt; da sie jedoch nicht gezüchtet worden waren, schwebt über ihre wirkliche Art und Klassenangehörigkeit ein Schleier. Fundort waren das Cerumen, die Cutis, die Mandelkrypten, die Umgebung der natürlichen Leibesöffnungen, der Zahnstein und Zungenbeschlag und endlich Faeces und Urin. Petri und Fr. Rabinowitsch waren die ersten, denen es gelang, aus diesen Pilzen Reinkulturen zu züchten. Durch Injektion damit infizierter Milch und Butter in das Peritoneum von Meerschweinchen führten die Forscher den Tod der Tiere unter pseudotuberkulöser Krankheitserscheinung herbei, und unter dem Mikroskop zeigte es sich, daß die pathologischen Produkte in Gestalt und Färbungsmodus dem Tuberkelbacillus ähnliche Parasiten enthielten; als Agarstrichkultur bildeten sie dicke, runzelige Beläge von orangegelber Farbe. Auch Möller legte Kulturen solcher Mikroorganismen an.

So wenig es also den genannten Autoren an Gelegenheit fehlte, säurefeste Pilze zu züchten, desto auffallender ist es, daß sie dieselben nicht als Glieder der Streptothricheengruppe identifiziert haben, welche Tatsache doch aus den Beschreibungen der Untersuchenden selbst — so gut wie aus meinen, an den von Král erhaltenen Kulturen angestellten Experimenten — am klarsten hervorgeht.

Eine frühere Arbeit [1]) über diesen Gegenstand und insbesondere das Studium des Verhaltens der Streptothricheen in Bezug auf Säurefestigkeit gab mir die Mittel an die Hand, diese Mikroorganismen in drei Gruppen einzuteilen. Die erste derselben umfaßt sämtliche dem Typus Streptothrix alba entsprechenden Streptothricheen, mit Einschluß von Arten und Varietäten, die der Entfärbung durch Säuren nicht widerstehen. Die Streptothrix-Arten der zweiten Gruppe dagegen, Typus Streptothrix flava, erleiden durchweg in Berührung mit Schwefel- oder Salpetersäure eine partielle Entfärbung; mit anderen Worten, in den nach Ziehl-Gabbetschen und modifizierten Methoden gefärbten Präparaten erscheint der Bacillenfaden gewöhnlich auf lange Strecken blau, die Endstückchen aber zeigen stellen- oder punktweise ein lebhaftes Rot (Fig. 23). Streptothrix violacea, der typische Repräsentant der dritten Gruppe, und Streptothrix viridis, welche ich derselben zugeteilt habe, sind im Besitz von Säurefestigkeit, gleichviel ob die Kulturen jung oder alt sind.

Den Streptothricheen der ersten Gruppe, welche, gezüchtet, dem Einfluß der Säuren keinen Widerstand leisten, wird diese Eigenschaft durch den Aufenthalt im Organismus zuteil. Außerdem hat Lombardo-Pellegrino nachgewiesen, daß viele, dieser Gruppe angehörende Arten, auf tierische Fette, namentlich auf Butter und Schmalz gesät, nach einiger Zeit der Entfärbung durch Säuren widerstehen und in der Gestalt isolierter, von den Tuberkelbacillen nicht zu unterscheidender Parasiten auftreten. So erklärt sich das häufige Vorkommen säurefester Bacillen in der Butter von selbst. Nichts Leichteres in der Tat, als daß Streptothricheenpilzchen der Luft auf Fettsubstanzen fallen, sich anfangs vermehren und später großenteils ausarten, so daß nur wenige säurefeste Bacillenbruchstücke zurückbleiben. Die Resultate der erwähnten

---

[1]) Ueber die pathogene Wirkung einiger Streptothrix- (Actinomyces-)Arten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. 1904.)

Experimente lassen auch die Ursache erkennen, warum der von Rabinowitsch und anderen Beobachtern behandelte säurefeste Bacillus, wenn gezüchtet, dieser Eigenschaft bar, im Organismus dagegen ihrer teilhaftig ist. Höchst wahrscheinlich gehören alle widerstandsfähigen Mikroorganismen, die uns im Cerumen, auf der Cutis etc. begegnen, der Streptothricheenfamilie an und ihr Vorkommen ergibt sich von selbst aus der Frequenz der Streptothrix in der uns umgebenden Luft, während andererseits der Fettgehalt jener Fundorte als Grund der Säurefestigkeit erscheint.

So ist das Gruppenbild der Pseudotuberkulose, oder, wenn man vorzieht, der säurefesten Mikroorganismen fixiert. Dem Bacillus der Tuberkulose ähnlich an Gestalt, an Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und im Entwickelungsmodus der Aussaat auf künstlichem Nährboden — wobei sich dicke, runzelige, dem Substrat stark adhärierende Beläge bilden — besitzen sie außerdem pathogene Eigenschaften, indem sie als Urheber chronischer Knötchenkrankheiten die Gewebe in ganz ähnlicher Weise schädigen wie der Bacillus Koch.

In meiner zuletzt veröffentlichten Arbeit brachte ich die pathogene Wirksamkeit einiger aus der Luft isolierter Streptothrix zur Kenntnis. Die vorliegende liefert die Resultate der histologischen Untersuchungen, aus denen die Analogie zwischen Tuberkulose und Pseudotuberkulose mit noch größerer Bestimmtheit hervorgeht.

Von allen isolierten Streptothrix mit pathogener Wirkung auf Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde gehören, wie schon meine frühere Arbeit angedeutet hat, einige der ersten Gruppe, Typus Streptothrix alba, und eine der dritten, Typus Streptothrix violacea, an. Unter den ersteren befanden sich zwei, die bei ganz ähnlichem Aussehen, sowohl der mikroskopischen Präparate als der Plattenkulturen — in Agar und Gelatine und Strichkulturen auf Agar und Kartoffeln — im Verhalten als Krankheitserreger unter sich differieren. Auf Kaninchen und Meerschweinchen endovenös verimpft, zeigte die eine nur bei den ersteren, die andere dagegen bei beiden Versuchstieren pathogene Eigenschaften. Die zweite Streptothrix alba erwies sich auch für Hunde gesundheitsschädlich.

Die aus der Luft isolierten Streptothricheen der dritten Gruppe, welche die Eigenschaft besitzen, auf Kartoffeln gesät, einen amethystvioletten, in Agar dagegen einen braunen Belag zu erzeugen, verhielten sich, Meerschweinchen und Kaninchen eingeimpft, pathogen, für Hunde aber unschädlich.

Angesichts der größeren Anzahl mittels endovenöser Einspritzungen erzielter positiver Resultate gebe ich denselben den Vorzug vor dem subkutanen und Bauchhöhleimpfen.

Durch endovenöse Injektion der beschriebenen Kulturen lassen sich bei Kaninchen und Meerschweinchen sowohl akute als chronische Infektionen hervorrufen. Auf die akuten erfolgt der Tod nach 3—4 Tagen und die Sektion weist an Leber und Lungen eine solche Menge von Miliarknötchen auf, daß die Farbe der Organe völlig verändert erscheint. Von größerer Bedeutung für die Analogie mit der Tuberkulose sind jedoch die anatomisch-pathologischen Befunde bei Tieren, die erst nach 14—25—30 Tagen der chronischen Infektion erlegen waren. In diesem Falle kommen in den Lungen, der Leber, den Nieren und in der Milz

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

der toten Meerschweinchen und Kaninchen Knötchen von größerem Umfange, aber in geringerer Anzahl zum Vorschein, von Farbe gelblichweiß, zeigen sie im Zentrum einen eiterartigen Kern, der auffallend an die käsige Substanz der von Kochs Bacillus erzeugten Tuberkel erinnert.

An Hunden bringen die Adereinspritzungen pathogener Streptothrix Krankheitserscheinungen entzündlichen Charakters hervor, genau so, wie man sie nach Infektion durch endovenöse Verimpfung von Reinkulturen der Tuberkulose beobachtet, oder es erscheinen Läsionen von neoplastischem Typus, wovon mir schon mehrere hochinteressante Fälle vorgekommen sind. Ich behalte mir vor, in einer späteren Abhandlung darauf zurückzukommen. Bei den Läsionen des Inflammationstypus bilden sich Knötchen von einer Tendenz zu mehr oder weniger rapider Degeneration der zentralen Zellelemente; dem neoplastischen dagegen fehlt die Knötchenformation und Degenerationsphase, während das neugebildete Bindegewebe das Aussehen gewisser Sarkome simuliert.

Von allen Streptothrix-Arten, die auf Hunde verimpft wurden, erwies sich nur Streptothrix alba II pathogen, und auch diese nicht auf konstante Weise, da von 17 Hunden nur bei 5 der Tod eintrat; dafür brachte der anatomisch-pathologische Sektionsbefund dieser Fälle sehr interessante Tatsachen zur Kenntnis.

Die erwähnten Versuchstiere hatten die Injektion zum Teil in das subkutane Bindegewebe, zum Teil in die Venen erhalten; 4 erlagen der endovenösen, der 5. der subkutanen Impfung. Bei einem der 4 ersteren erfolgte der Tod nach 18 Tagen und die Sektion wies nur an den Lungen eine Veränderung auf, hervorgebracht durch zahlreiche Knötchen von Stecknadelkopfgröße. Der zweite Hund starb nach 20 Tagen, mit einem haselnußgroßen Nodulus an der Spitze des rechten Lungenflügels und zahlreichen, an der Oberfläche und im Inneren zerstreuten Knötchen von Hanfkorn- bis Erbsengröße. Im Inneren des großen Knotens befand sich eine, an den Wänden mit Eiter bekleidete Höhle. Der dritte Hund starb 5 Tage später; wie bei seinen Vorgängern waren die Lungen von zahlreichen Knötchen von Hanfkorngröße, gelblichweißer Farbe und eiteriger Substanz im Inneren durchsetzt. Der vierte endlich verendete erst nach 45 Tagen; die Autopsie wies Läsionen an den Nieren und den Mesenteriumlymphdrüsen auf. Die Drüsen waren bedeutend vergrößert und zeigten drei über die Oberfläche hervorragende Knötchen von Erbsengröße, die, gelblichweiß von Farbe, eine weiche, kreideweiße, an kalkigem Detritus reiche Substanz einschlossen; in der Rindensubstanz der Nieren stieß man auf stecknadelkopfgroße Noduli. Das letzte der 5 Versuchstiere, welchen man die Infektion durch subkutane Impfung des Bindegewebes beigebracht hatte, erreichte der Tod nach 25 Tagen. Bei der Sektion ließ sich an der Impfstelle keine nennenswerte Veränderung wahrnehmen, nur an der Spitze des rechten Lungenflügels befand sich eine taubeneigroße Kavität mit von Eiter überzogenen Wänden.

Durchweg bei allen an Infektion durch die beiden Streptothrix alba und Streptothrix violacea gestorbenen Tieren erregte der Befund der mikroskopischen Untersuchung auf Parasiten großes Interesse.

Nach erfolgtem Tode wurden unverzüglich Präparate hergestellt, indem der Operierende die Objektträgergläschen mit Eiter aus den in verschiedenen Organen befindlichen Knötchen sorgfältig bestrich und das Färben entweder nach einer der einfachen oder nach der Ziehl-Gabbetschen Methode vornahm. Die nach letzterer Vorschrift behandelten Präparate brachten stets mehr oder weniger zahlreiche säurefeste Bacillen zum Vorschein, die hier und da etwas dicker als der Tuberkulosebacillus, demselben andere Male vollständig ähnlich waren und bald homogen auf die ganze Fadenlänge, bald nur streckenweise gefärbt — d. h. wie gekörnt — erschienen.

Das Gelingen der Kulturversuche aus den an Streptothrix-Infektion gestorbenen Tieren erwies sich leider nicht konstant und läßt sich mit Sicherheit nicht behaupten, daß solches mit den morphologischen Modifikationen, welche der Parasit in den Geweben präsentiert, zusammenhänge. Was ich dagegen sehr bestimmt versichern kann, ist die Tatsache, daß die Säuren widerstehenden Formen hier und da die Fähigkeit besitzen, sich in künstlichen Nährböden zu vermehren. Von der Zentrumsubstanz der in den Mesenteriumlymphdrüsen der Hündin IV vorgefundenen Knötchen, in welcher Substanz ein sorgfältiges mikroskopisches Studium ausschließlich säurefeste Bacillenfragmente nachwies, säte ich einen Teil auf Kartoffeln und brachte sodann die über der Flamme zugeschmolzenen Röhrchen für 15—20 Tage in den Thermostaten. Nach Ablauf dieser Frist zeigte sich eine Entwickelung kleiner, voneinander getrennter Kolonieen von schmutzig-weißer — statt kreideweißer Farbe, wie die verimpften — somit von gründlich verschiedenem Aussehen. Nachdem die Röhrchen geöffnet und ihr Inhalt verpflanzt worden war, ließ man die Kulturen bei Zimmertemperatur wachsen; nun ließ die Bildung von Belägen, von derselben weißen Farbe wie die der zuerst geimpften, nicht auf sich warten. Ich dachte an die Möglichkeit, das kümmerliche Wachstum im Thermostaten zum Teil von der Einschränkung des nötigen Sauerstoffvolumens, zum Teil von der höheren Temperatur herzuleiten und veranstaltete, um mir Gewißheit zu verschaffen, zahlreiche Verpflanzungsversuche mit Kulturen von Streptothrix alba, die sich in meiner Sammlung vorfanden. Man übergab sie, gleichfalls in Röhrchen eingeschlossen, dem Thermostaten. Das gleiche kümmerliche Wachstum, das gleiche Aussehen wie oben zeigten die Kulturen auch hier. Diese Diversität im Verhalten ist somit nicht spezifischen Modifikationen, die der Parasit im Organismus erlitten haben könnte, sondern besonderen äußeren Umständen, welchen die Kulturen ausgesetzt waren, zuzuschreiben. Leider gelang bei der Mehrzahl der übrigen Versuchstiere, deren Läsionen unter dem Mikroskop säurefeste Bacillen aufgewiesen hatten, die Aussaat von Kulturen nicht. Es ist schwer zu sagen, ob dies der kargen Ausbeute an Parasiten oder vielleicht davon abhing, daß sie tot waren. Ganz sicher haben die Kulturen der säurefesten Formen monatelanges Leben. Gezüchtete Streptothrix, die teilweise in toto den Säuren widerstehen, zeigen, nachdem sie 5, 6, 7, 8 Monate hindurch auf Kartoffeln vegetiert haben, bei der mikroskopischen Untersuchung nach Ziehl-Gabbetscher Methode mehr oder weniger kurze Strecken intensiv rot, kein einziges Bacillenfragment aber blau, höchstens ein winziges Endchen so schwach gefärbt, daß es kaum wahrzunehmen ist. Sowie man jedoch mit solchen Kulturen zum Verpflanzen schreitet, fallen die Resultate stets positiv aus.

Aus der Zentralmasse der in Mesenteriallymphdrüsen der Hündin IV gefundenen Knötchen wurden mittels sterilisierten Wassers Emulsionen hergestellt und sodann Kaninchen und Meerschweinchen in die Jugularis

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

injiziert. Die Tiere starben nach ein bis anderthalb Monaten mit pseudotuberkulösen Krankheitserscheinungen an Lungen und Nieren, in denen sich eine ziemliche Anzahl säurefester Bacillen nachweisen ließ. Doch blieben mit diesen Knötchen angestellte Züchtungsversuche erfolglos. Unter solchen Umständen, d. h. wenn die anatomisch-pathologischen sowie die Befunde der mikroskopischen Untersuchung identisch lauten, jedoch kein positives Kulturresultat vorliegt, ist es möglich, daß ein Streptothrix-Pseudotuberkulosefall für wirkliche Tuberkulosekrankheit angesehen werden kann. Da nun das Gelingen der kulturellen Versuche zu den Ausnahmen gehört, so ist auch die Annahme gestattet, daß derlei Verwechselungen nichts weniger als selten stattfinden. Gelingt aber das Züchtungsexperiment, so gibt es nichts Leichteres, als die Differentialdiagnose zu stellen. Die Entwickelung des Tuberkulosebacillus geht außerordentlich langsam von statten und erfordert eine Temperatur von 37 ° C, während die Streptotrhicheen sich durch rapides Wachstum auszeichnen und hierbei die Zimmertemperatur der des Thermostaten vorzuziehen scheinen. Jene bilden auf Glycerinagar und auf Kartoffeln einen kompakten, doch nicht zäh am Nährboden anhaftenden Belag; ganz im Gegensatz hierzu lassen sich die eben so dichten Beläge der Streptothricheenkulturen nur schwer mit der Nadel zerreißen und vom Nährboden trennen.

Bei Hunden pathogen wirkende Streptothricheen sind nur sehr wenige bekannt. Rabe[1]) beobachtete schon vor Jahren einen Fall an einem von purulentem Blutgeschwür befallenen Hunde; doch erschien die pathogene Wirkung in ganz anderem Lichte als bei den von mir oben beschriebenen Infektionen. Der unter dem Mikroskop beobachtete Parasit hatte die Form von Rasen, dessen im Winkel gebogenen Filamente teils anastomosiert, teils mit endständigen Anschwellungen versehen waren. Der Autor gab ihm den Namen Cladothrix canis; Kulturen erhielt er davon nicht. Auf Grund interessanter Beobachtungen, die nach endovenöser Injektion einiger Streptothrix auf Hunde der Sektionsbefund gestattet hatte, versuchte ich an Versuchstieren derselben Gattung Jugulareinspritzungen des Bacillus der Menschentuberkulose. Von zwei Hunden, die mit Reinkulturen der Infektion geimpft worden waren, starb der eine nach anderthalb, der andere nach ungefähr drei Monaten. An beiden wies die Autopsie lediglich Schädigung der Mesenteriumlymphdrüsen auf, genau entsprechend den oben beim Befund an Hündin IV beschriebenen. Das mikroskopische Studium der aus dem Knötcheninhalt hergestellten und nach Ziehl-Gabbets Methode gefärbten Präparaten ergab nur eine höchst magere Ausbeute an Tuberkulosebacillen; alle Kulturversuche blieben erfolglos.

Unter den verschiedenen Eigenschaften der Streptothricheen, mit welchen wir uns bisher beschäftigt haben, fällt das Hauptgewicht auf ihr Vermögen, gleich dem Tuberkelbacillus Koch eine Infektion mit Knötchenbildung hervorzubringen. Die von dem Kochschen Mikroben erzeugte Läsion beginnt mit der Vermehrung der Bindegewebszellen, der Endothelial- und Epithelialzellen des Parenchyms. Dadurch entstehen polygonale Zellen mit großem Vesikularkern, die sogenannten

---

1) Ueber einen neu entdeckten, pathogenen Mikroorganismus beim Hunde. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1888.)

Epithelioidzellen. Während einige Forscher den Hauptanteil an der Tuberkelbildung den fixen Zellen zuschreiben und diese als Ursprung der Epithelioidzelle betrachten, leiten andere die Abstammung der letzteren von den Wanderzellen her. Hat der Tuberkel eine gewisse Größe erreicht, so bleibt die Entwickelung stationär. Wenn die Epithelioidzellen fortfahren, sich zu vermehren, ohne daß die Teilung der Zellkörper damit Schritt hält, so bildet sich die Riesenzelle von ovaler oder unregelmäßiger Gestalt. In diesen Riesenzellen finden sich gewöhnlich an einer Stelle die Zellkerne, an einer anderen die Bacillen. Noch bevor die regressive Metamorphose stattfindet, erscheinen an der Peripherie des Tuberkels kleine protoplasmaarme Zellen mit intensiv gefärbtem Kern; es sind dies aus den Blutgefäßen ausgetretene Wanderzellen, welche die Infiltrationszone bilden. Das Entarten des Tuberkels beginnt bei der Entstehung der Riesenzellen, ihr auf dem Fuße folgt das Zerbröckeln und die Zerstörung der Zellkerne und daran anschließend Koagulationsnekrose. In diesem Stadium tritt die Tuberkelverkäsung ein, zuletzt die Schmelzung zu rahmähnlichem Eiter; Virchow erklärt die Erscheinung für einen Mazerationsprozeß, andere ziehen vor, sie der Tätigkeit der Suppurationsmikroben zuzuschreiben.

Um die Histogenese der von Streptothricheen an tierischen Organen hervorgebrachten Läsionen zu studieren, benutze man Schnitte, die Initialknötchen aufweisen. Sowohl bei Meerschweinchen als bei Kaninchen zeigen die frischen Knötchen (Fig. 1 und 5) an der Zentralstelle eine oder mehrere Riesenzellen mit blassen, blasenartigen Zellkernen, die häufig isolierte oder gruppenweise vereinigte Bacillen enthalten. Zwischen die Riesenzellen eingelagert, erscheinen nicht selten im Zerbröckeln begriffene Zellkerne und ein paar von der Nukleardisgregation herrührende Chromatinkörnchen. Um eine oder mehrere in der Mitte liegende Riesenzellen dehnt sich eine Zone von Zellen aus, deren Kern die gleichen Eigentümlichkeiten der Riesenzellenkerne vorweist. Auch in dieser aus Epithelioidzellen bestehenden Zone — von mehr oder weniger großem Umfang, je nachdem man es mit jungen oder gereiften Tuberkeln zu tun hat — begegnet man zerbröckelnden Kernen und Chromatinkörnchen. Sie ist ihrerseits wieder von einer Zone aus Wanderzellen mit intensiv gefärbtem Kern umgeben.

In diesem ersten Stadium der Krankheitserscheinung tritt die Analogie zwischen den Initialknötchen der von Streptothrix und der vom Bacillus Koch erzeugten Infektionen ganz auffallend hervor. In Lungenschnitten von Meerschweinchen, denen endovenöse Impfung mit Kochschen Bacillen den Tod gebracht hatte, stieß ich auf Initialtuberkel, die in keiner Weise von denen zu unterscheiden waren, welche die Lungen an Streptothrix-Infektion gestorbener Tiere enthielten.

Zahlreiche Knötchen findet man im Perivasal- und im Peribronchial-Bindegewebe.

Auch bei dem Streptothrix-Pseudotuberkel beginnt die Degenerationsphase vom Zentrum aus mit Zerstörung der Riesenzellen. Die entarteten Knötchen enthalten eine Substanz, die Anilinfarben nicht aufnimmt und hier und da Kerndetritus, hier und da kalkigen Detritus aufweist.

Das Entstehen von Knötchen in den Organen ist von mehr oder weniger diffuser Parvicellularinfiltration begleitet. Häufig treten Höhlen auf, voll Zellen, die sich von den Wänden ablösten, oder voll zerschmolzener Zellkörper.

Dasselbe Strukturbild beobachtet man bei den Läsionen am Hunde. Bei den größeren, in den Lungen auftretenden Knötchen (Fig. 4) erscheinen im Zentrum mehrere Gruppen von Riesenzellen mit oder ohne Bacillen, die eine weite Epithelioidzellenzone umgibt. Um diese breitet sich wieder ein ebenso ansehnlicher Gürtel aus Wanderzellen mit lebhaft gefärbtem Kern aus.

Die kalkige Degeneration erscheint bei den durch Streptothrix an Hunden erzeugten Knötchen nicht selten.

Zu den bis jetzt betrachteten Analogieen zwischen Tuberkulosebacillen und Streptothricheen in Bezug auf die Form der Mikroben, auf Säurefestigkeit und auf die anatomisch-pathologischen Veränderungen, gesellen sich noch analoge histogenetische Eigentümlichkeiten. Keiner der anderen Mikroorganismen, die granulomerzeugend auftreten, weist ein so vielseitiges Uebereinstimmen mit dem Kochschen Bacillus auf, wie die Streptothricheen der Pseudotuberkulose-Pilzgruppe. Die letztere, durch Affinität mit Bacillus Koch gekennzeichnete Abteilung darf ja nicht mit zwei anderen Streptothricheengruppen zusammengeworfen werden, welche die Eigenschaft besitzen, Actinomyces-Tumoren bezw. solche vom Sarcomatypus (Madurafuß) hervorzurufen; zwischen diesen und der ersten Gruppe ist eine scharfe Grenze zu ziehen.

In der Fachliteratur der letzten Jahre kamen Lungenaffektionen des Menschen zur Sprache, die, von Streptothricheen erzeugt, Aehnlichkeit mit Formen der Menschentuberkulose hatten.

Buchholtz[1]) beschrieb einen schwierigen Fall von Lungenkrankheit am Menschen, bei dem die Untersuchung des Sputums keine Tuberkulosebacillen nachzuweisen im stande war. Rechts war der Patient von eiterig-fibrinöser Pleuritis mit diffuser Infiltration der Lungen und nekrotischen Kaverne affiziert, links von beschränkter Pleuritis, minder diffuser Lungeninfiltration und kleinen Nekroseherden. Die Sektion der Lungen und der Kavernenwandungen brachte ein Geflecht verästelter Fäden zum Vorschein. Wiewohl es an Kulturen gebrach, wurde angenommen, es liege Streptothrix-Infektion vor. Mit Rücksicht auf die Säurefestigkeit der Parasiten bleibt uns der Autor die Antwort schuldig.

Einen zweiten wichtigen Fall von Lungenstreptothrichose haben Scheele und Petruschky[2]) beschrieben. Es handelte sich um eine wohlgenährte Frau, die von einem chronischen Brustleiden heimgesucht war, begleitet von zahlreichen subkutanen Abscessen. Noch zu Lebzeiten der Kranken ließ sich auf Grund der mikroskopischen Untersuchung und ausgeführter Kulturen des Sputums und des Absceßmaterials Streptothrichose diagnostizieren. Der Leichenbefund lautete auf linksseitige diffuse Pleuritis mit Infiltration eines großen Teils des Lungenflügels. Sein Gewebe erschien dunkelgrau gefärbt von zahlreichen mit Eiter gefüllten Nekroseherden, die es durchzogen. Ein großer Absceß fand sich im Mediastinum und viele andere im subkutanen Bindegewebe. Auf Agar und in Gelatine ausgesät, gingen Kulturen auf, die nachher schmolzen und den charakteristischen Schimmelgeruch

---

[1]) Ueber menschenpathogene Streptothrix. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1897.)

[2]) Kulturen und Präparate einer menschenpathogenen Streptothrix-Art. (Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1897.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

zeigten. Auf Kartoffeln gedieh der Parasit nur kümmerlich, verglichen mit dem üppigen Wachstum der Streptothrix Eppingers und zweier Actinomyces-Kulturen. Auf Kaninchen verimpft, brachte der gezüchtete Parasit Abscesse hervor, aus welchen sich neue Kulturen ziehen ließen.

Auch bei diesem Falle wird von den Forschern über positive oder negative Säurefestigkeit, die der Pilz in den Geweben sich angeeignet haben könnte, nichts mitgeteilt.

Petruschky[1]) beobachtete einen Lungen-Streptothrichosefall an einem 12-jährigen Knaben, der, weil schwach von Konstitution und mit chronischem Husten behaftet, für tuberkulös galt. Unter dem Mikroskop erschienen im Sputum neben Influenzabacillen lange Fäden, die sich ohne Schwierigkeiten auf Agar züchten ließen und weiße Kulturen gaben. Um eine der Behandlung mit Kochs Tuberkulin analoge Kurmethode zu erproben, wandte man extra präpariertes Streptothrichin an und erzielte komplette Heilung.

Berestneff[2]) erstattet Bericht über zwei weitere Beispiele von Lungenstreptothrichose. In einem Fall von Pleuropneumonitis mit Suppuration fand er im Eiter eingenistet gelblich-weiße Körnchen von der Größe eines Stecknadelkopfes. Sie bestanden aus einem strahlig disponierten und an den Enden in Keulen auslaufenden Fadenpilz, der in Kulturen von dem des Actinomyces wesentlich verschieden aussah. Auf Agar wuchsen milchweiße Kolonieen auf. Wie im vorhergehenden Falle, handelte es sich um eine Streptothrix alba. Bei dem zweiten, wie Lungenaktinomykose verlaufenden Fall stieß der Autor im Eiter aufs neue auf gelbliche, den soeben beschriebenen ganz ähnliche Körnchen. Auch Strahlenform und Spitzenanschwellung fehlten nicht. Durch Aussaat wurden weiße Kolonieen erhalten, die später zu einem milchweißen Belag konfluierten. Intraperitoneales Verimpfen der Kulturen auf die gewohnten Versuchstiere blieb resultatlos. Bei subkutaner Injektion erschienen Infiltrationen, verschwanden aber langsam wieder.

Flexner[3]) hat einen Pleuropneumonitisfall beschrieben, als dessen Erreger unter dem Mikroskop eine Streptothrix identifiziert wurde. Kulturversuche hatten keinen Erfolg. Als pathologische Erscheinungen sind zu notieren: Infiltration, Nekrose und Formation von Lungenkavernen; diese an Tuberkulose mahnenden Tatsachen veranlaßten den Forscher, den Prozeß als Pseudotuberculosis hominis streptothrica zu bezeichnen. Die Infektion eines Meerschweinchens mittels der pathogenen Lungensubstanz verursachte den Tod unter Abmagern. Die Sektion jedoch brachte keinerlei Schädigung der Organe zur Schau. Was Widerstandsfähigkeit gegen Säuren betrifft, liegt keine Andeutung vor.

Rullmann[4]) und Perutz[5]) fanden in den Sputa eines Lungenkranken Parasiten mit echten Verästelungen. Auf dem Loefflerschen Serumpräparat kamen spärliche gelbe Oberflächenkulturen zum Vorschein, während Bouillon sich anfangs nur trübte, nach 24 Stunden aber trat an seiner Oberfläche üppiges Wuchern von Kulturen ein. Die mikroskopische Untersuchung ließ an den Bacillen echte Verzweigungen, hier und da Anschwellungen der Fadenspitzen wahrnehmen, wodurch sie dem Mikroben der Diphtheritis ähnelten. Von den in großer Anzahl geimpften Versuchstieren starben ungefähr zwei Drittel — namentlich Mäuse und Kaninchen und besonders schnell die ersteren — an allgemeiner Streptothrix-Infektion. Die aus dem Läsionsmaterial der Tiere erhaltenen Züchtungsprodukte wiesen gewisse kulturelle Modifikationen auf. Aus dem Leberinfarkt eines ins Peritoneum geimpften Kaninchens entwickelte sich eine der Streptothrix odorifera — 1895 von den genannten Forschern isoliert und mit diesem Namen bezeichnet — identische Streptothrix-Kultur.

---

[1]) Demonstration von Präparaten und Kulturen von einem zweiten intra vitam diagnostizierten Falle von Streptothricosis hominis. (Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1898.)

[2]) Ueber Pseudoaktinomykose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX.)

[3]) Pseudotuberculosis hominis streptothrica. (Journ. of exper. med. 1898.)

[4]) Ueber eine aus Sputum isolierte pathogene Streptothrix. [I. Mitt.] (Münch. med. Wochenschr. 1898.)

[5]) Ueber eine aus Sputum isolierte pathogene Streptothrix. [II. Mitt.] (Ibid. 1899.)

Bei einem Falle von Lungenkrankheit mit darauffolgender Suppuration entdeckte Foulerton[1]) im Sputum sowie im Eiter eine Streptothrix. Der Parasit entwickelte sich auf Glycerinagar in Form eines trockenen, schmutzig-weißen Häutchens. Impfversuche auf die gewohnten Versuchstiere gaben keinerlei Resultat.

Laut Referat v. Ritters[2]) über einen ulcerösen Pleuritisfall mit metastatischen Gehirnabscessen hat der Verf. im Eiter eines Parasiten vom Charakter der Streptothrix ausfindig gemacht, doch keine Kulturen daraus erzielen können.

Von höchster Bedeutung und mit großer Sorgfalt ausgearbeitet ist folgender von Aoyama und Miyamoto[3]) beschriebener Fall. Bei Lebzeiten des Patienten wies das Sputum verästelte Filamente auf. Die Autopsie ergab Doppelpleuritis mit Exsudat, kleine, auf beide Lungenflügel zerstreute, hepatisierte Stellen und im rechten einen Absceß von der Größe eines Hühnereies. Auch der Eiter enthielt die Bacillenform mit echten Ramifikationen. Von anderen Parasiten keine Spur. Die Schnitte des hepatisierten Lungengewebes wiesen zwischen den runden Infiltrationszellen dieselben verästelten Filamente auf. In den übrigen Organen war nichts zu finden. Kulturen auf Glycerinagar lieferte der Lungeneiter. Der Parasit bildete an der Agaroberfläche ein feuchtes, weißliches Häutchen, das mit der Zeit gelb wurde. Auf Bouillon entstanden weißliche Schüppchen und am Boden sammelte sich ein flockiger Niederschlag aus verflochtenen Fäden, während die Flüssigkeit klar blieb. Auch in bloß sterilisiertem Wasser gedieh der Mikrobe unter Bildung einer dünnen, weißen Oberflächenmembran. Ein Zusatz von 5 Proz. Traubenzucker vermochte kein üppigeres Vegetieren hervorzurufen als eben beschrieben. Auf Kartoffeln entstand ein verrunzelter Belag von gelbbrauner Farbe; auf Milch an der Oberfläche ein gelbes Häutchen. Die Injektion des Lungeneiters und der Kulturmassen in Bauch- und Brusthöhlen von Meerschweinchen erzeugte hämorrhagische Entzündungen mit Knötchenbildung. Impfung von Kaninchen, Mäusen, Hühnern zeitigte keinerlei Resultate. Die Autoren sind der Ansicht, ihre Streptothrix weise große Aehnlichkeit mit der Eppingerschen auf.

Ueber zwei weitere Lungenstreptotrichose-Fälle liegen Beschrei-

---

[1]) On Streptothrix infections. (The Lancet. 1899.)

[2]) Ueber einen Fall von durch eine Streptothrix bedingter Pleuritis ulcerosa mit metastatischen Gehirnabscessen. (Prag. med. Wochenschr. 1900.)

[3]) Ueber die menschenpathogene Streptothrix. (Aus d. Mitteil. d. med. Fakultät d. kais. japan. Univ. Tokio. Bd. IV. 1900.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

bungen von Norvis und Larkin[1]) vor. Laut denselben enthielt der Lungeneiter Körnchen, in denen Streptokokken und verästelte Filamente nebeneinander zu sehen waren. Die nämlichen Filamente durchzogen auch Lungengewebe. Von den beiden Fällen lieferte der eine gar keine Kulturen, bei dem anderen ließen sich solche auf Kaninchenniere-Schnittchen züchten. Später gelang es, den Parasiten auch in Bouillon und auf Agar zum Wachstum zu bringen. Die fest am Nährboden adhärierenden Kolonieen zeigten weiße Farbe. Reinkulturen des Mikroben, in das subkutane Bindegewebe eingespritzt, brachten bei Kaninchen Abscesse, in die Trachea geimpft, Empyem und Lungenabsceß hervor.

Der einzige Fall von Lungenstreptothrichose, bei dessen Beschreibung die Säurefestigkeit des Parasiten erwähnt wird, ist der von Birt und Leishman[2]) beschriebene. Der Patient, ein 26-jähriger Soldat, war im Januar 1900 an Diphtheritis erkrankt und, nicht komplett hergestellt, entlassen worden. Im Mai desselben Jahres stellten sich von neuem Fieber unter Abmagern und Kachexie ein. In der rechten Pleurahöhle trat Exsudat auf, die Leber schwoll an; den Husten begleiteten rötliche muco-purulente Expektorationen. Das Sputum wies säurefeste, dem Tuberkulosebacillus ähnliche Parasiten auf. Nach Punktur ergoß sich aus der rechten Pleurahöhle geruchloser, brauner Eiter von schleimiger Konsistenz. Es gelang, den Parasiten daraus zu züchten. 11 Tage nach seinem Eintritt in das Lazarett starb der Kranke. Bei der Autopsie zeigte sich ein großes Empyem auf der rechten Seite. Der Eiter hatte nicht das charakteristische Aussehen aktinomykotischen Eiters. In dem am Diaphragma adhärierenden rechten Lungenflügel erschienen weder Knötchen noch Kavernen. Der linke war besät mit cirrhösen Knötchen, die keine Spur von Verkäsung und ein von dem der Tuberkeln durchaus verschiedenes Aeußere zeigten. Die Leber war bedeutend vergrößert. Das Pericardium enthielt 625 ccm einer trüben Flüssigkeit. Das Kolon wies in der Nähe der Flexura sigmoidea Ulcerationen auf. Im Eiter zeigte sich unter dem Mikroskop eine Art Netzwerk aus dünnen Filamenten mit rechtwinkeliger Verzweigung. Die Lungenknötchen enthielten Fadenbüschel und kurze Fragmente, wie sie im Sputum aufgetreten waren. Agarkulturen bildeten nach 36 bis 48 Stunden einen staubigen, schneeweißen Belag. Gleiche Beläge zeigten sich auch auf Gelatine, auf Kartoffeln hatten sie ein trockenes Aussehen und weiße Farbe. Reinkulturen, auf Meerschweinchen übertragen, ergaben positive Resultate. Die im Peritoneum geimpften Tiere erlagen der Infektion nach 5—6 Wochen, wobei sich das Entstehen großer, käsiger Eitermassen zeigte.

War aus der mikroskopischen Untersuchung der Parasiten sowie aus den anatomisch-pathologischen Sektionsbefunden hervorgegangen, daß durch Impfen mit Reinkulturen gewisser Streptotricheen an Tieren ganz ähnliche Krankheitserscheinungen hervorgerufen werden konnten, wie durch den Bacillus Koch, so ist nun auch der Nachweis geleistet, daß das Gleiche auch bei den entsprechenden Menscheninfektionen zutrifft. Diese Tatsachen in das rechte Licht zu stellen, war meine Absicht bei Aufzählung sämtlicher bisher im Druck erschienenen Beschreibungen von Lungenstreptothrichose-Krankheitsfällen. Eine stich-

---

[1]) Two cases of microbic bronchiopneumonia with Streptothrix. (Journ. of exper. med. Vol. V. 1900.)

[2]) A new acid-fast Streptothrix pathogenic to man and animals. (Journ. of hyg. 1902.)

Saufelice, Streptothrix-Pseudotuberkul

Fig 1.

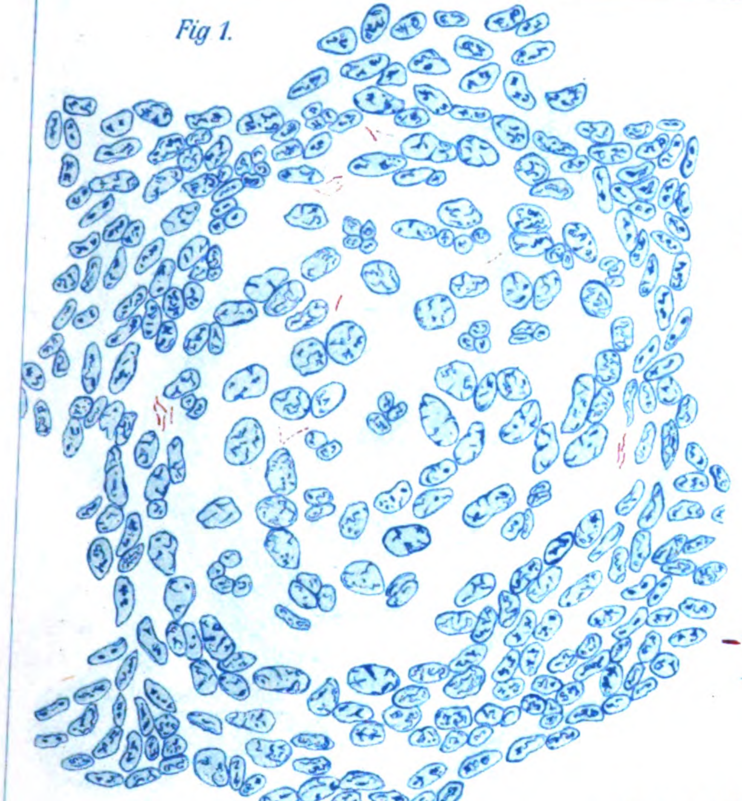


Fig. 2.

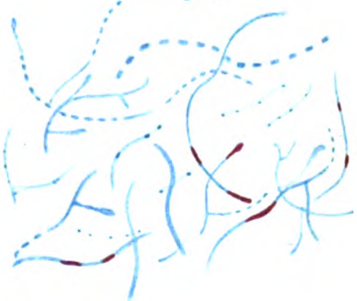


Fig. 3.

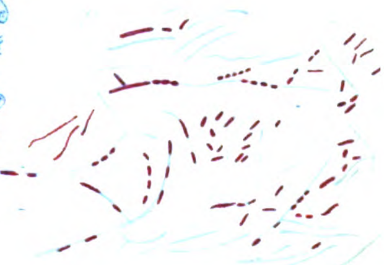


Fig. 4.

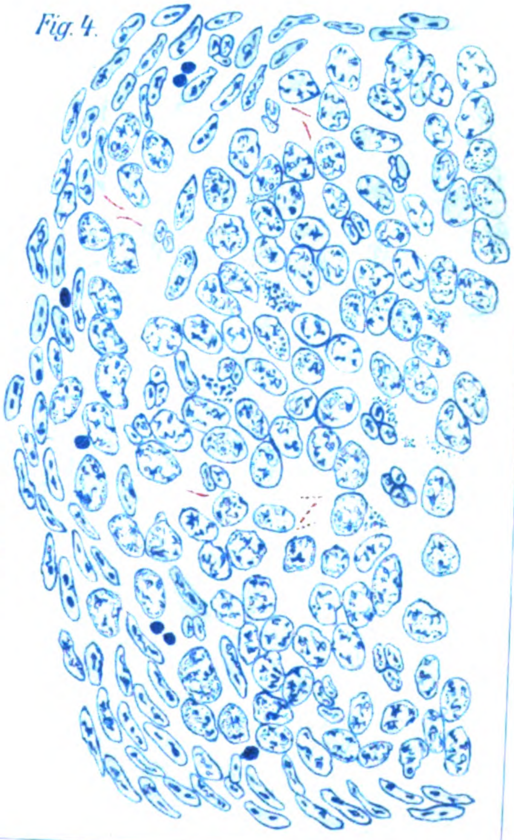
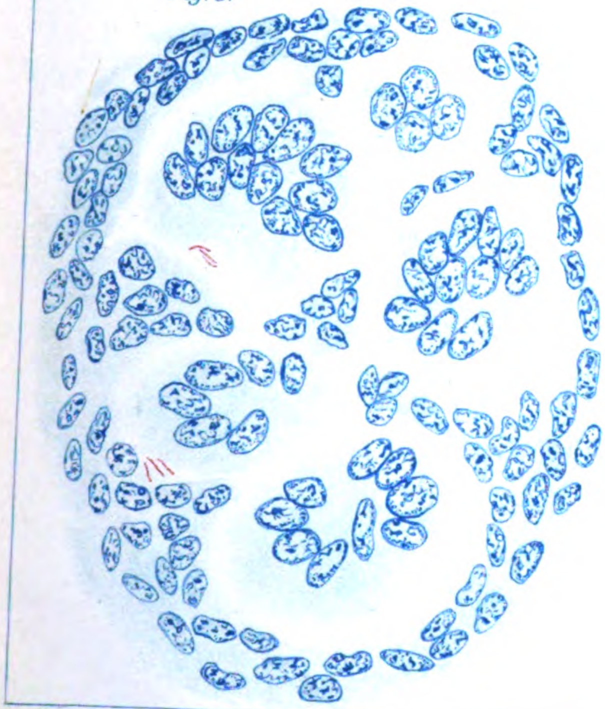


Fig. 5.



Saufelice gez.

Verl v Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. J. Arndt, Jena.

haltige Differenzierung zwischen einem Pseudotuberkulose- und einem echten Lungenschwindsuchtsfall zu etablieren, ist nur dann gestattet, wenn Kulturversuche gelungen sind. Liegen keine solchen vor, so ist es erlaubt, die Diagnose als unzuverlässig zu betrachten; denn unter dem Mikroskop erscheint die Form des Parasiten in beiden Fällen absolut identisch und das anatomisch-pathologische wie das histologische Ergebnis liefert keine so voneinander abweichenden Daten, daß zwischen dem einen und dem anderen Infektionsprozeß eine Scheidewand mit Sicherheit sich aufstellen ließe.

Keines der Experimente, die ich mit Serumimmunisierung und Serumtherapie anstellte, ward bis heute von positivem Erfolg gekrönt. Mittels eines von der Firma Zambelli nach meinen Angaben konstruierten Spezial-Triturierapparates, der Vorzügliches leistet, stellte ich die Proteïne des Tuberkelbacillus bezw. der Streptothrix dar. Diese injizierte ich mehrmals im Verlaufe von 2, 3, 4 Monaten Hunden in das subkutane Bindegewebe und sammelte hierauf das Serum. Meerschweinchen, die mit diesem Serum subkutan in die Bauchhöhle und die Jugularis geimpft wurden, widerstanden der Infektion durch virulente Kulturen nicht. Das Serum besaß somit keine immunisierende Eigenschaft.

Auch der Tuberkel- wie der Streptothrix-Infektion erlagen alle Meerschweinchen, denen man, während mehrerer Tage und in ziemlich starker Dose, Serum von subkutan mit den Proteïnen behandelten Hunden in das Bindegewebe und die Bauchhöhle eingespritzt hatte. Zur Stunde sind weitere Experimentserien an anderen Versuchstieren im Gange, um zu sehen, ob von einem derselben Antikörper von immunisierender oder den Verlauf der Streptothrichoseinfektion modifizierender Wirkungsfähigkeit erhaltbar sind.

Messina, August 1904.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Lunge eines an endovenöser Impfung mit Streptothrix alba II gestorbenen Meerschweinchens. Ok. 4, Obj. $^1/_{12}$, Koristka.

Fig. 2. Reinkultur von Streptothrix flava. Trockenpräparat nach Ziehl-Gabbetscher Methode gefärbt. Intensiv rote Bacillenstrecken als Fortsetzung mit säurefesten Formen. Ok. 4, Obj. $^1/_{12}$, Koristka.

Fig. 3. Reinkultur von Streptothrix Eppinger. Trockenpräparat, gefärbt wie voriges. Säurefeste in Fortsetzung nicht säurefester Bacillen. Erstere treten hier in größerer Menge auf als in der Streptothrix flava-Kultur. Ok. 4, Obj. $^1/_{12}$, Koristka.

Fig. 4. Lunge eines an endovenöser Impfung mit Streptothrix alba II gestorbenen Hundes. Ok. 4, Obj. $^1/_{12}$, Koristka.

Fig. 5. Kaninchenlunge; Tod erfolgt nach endovenöser Streptothrix alba II-Impfung. Initial-Pseudotuberkel mit 5 Riesenzellen, von Epithelioidzellen umgeben. Zwischen den Riesen- und Epithelioidzellen kommen zwei Gruppen säurefester Bacillen zum Vorschein. Ok. 4, Obj. $^1/_{12}$, Koristka.

Nachdruck verboten.

Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität in Siena. (Direktor: Prof. A. Sclavo.)]

Von Dr. **Nello Mori**, Tierarzt.

Im Sommer 1903 erfuhr ich, daß in Siena in kurzer Zeit mehrere Katzen unter einem besonderen symptomatischen Bilde gestorben waren.

Da ich vermutete, daß es sich um eine in epizootischer Form aufgetretene Infektion handelte, ersuchte ich mehrere Personen, mir einige mit dieser Krankheit behaftete Tiere oder doch wenigstens einige Tiere, die an derselben gestorben waren, zu verschaffen, damit ich die Krankheit eingehend erforschen könnte.

Trotz aller Bemühungen gelang es mir aber nur, eine einzige, ungefähr 3 Monate alte, dem Tode nahe Katze zu erlangen; von mehreren anderen konnte ich nur die Krankengeschichte erfahren, die übrigens die gleiche war, wie bei dem Tiere, das sich in meinen Händen befand. Ueber dieses Tier wurde mir folgendes berichtet:

Anamnese. Der Eigentümer hatte die Erkrankung der Katze 15 Tage vor Aushändigung derselben an mich bemerkt. Das Tier, das bis dahin kein Krankheitssymptom gezeigt hatte, lief plötzlich wie erschrocken, mit weit aufgerissenen Augen besinnungslos hin und her, drehte sich im Kreise bald nach rechts, bald nach links, taumelte endlich und stürzte in paralytischem Zustande unter unwillkürlichem Harnabgange zusammen. Nach 15 Minuten erhob es sich mit Mühe und kehrte zu seinem Lager zurück.

An den darauffolgenden Tagen bekundete das Tier Traurigkeit und Schlafsucht, fraß wenig und war nicht mehr so munter und spaßhaft, wie es junge Tiere zu sein pflegen. Am 7., 12. und 14. Tage folgten 3 weitere, immer heftigere und länger dauernde Anfälle; der letzte Anfall ließ das Tier in dem Zustande, in welchem es mir übergeben wurde.

Status praesens. Auf den Boden gesetzt, bringt sich die Katze in die Brustbein-Bauchlage mit etwas ausgespreizten Gliedern und gesenktem Kopfe. Die Haare sind zerzaust, die Augen halb geschlossen und von Schleim triefend, die Schleimhäute blaß; Geifer am Munde.

Bei der Thermopalpation wird, besonders an den Extremitäten, markierte Hypothermie wahrgenommen.

Rektaltemperatur 37°. Schweres, unregelmäßiges Rippen-Bauchatmen.

Bei der Palpation des Bauches fühlt man, daß die Eingeweide gespannt und mit festen Stoffen angefüllt sind; eine Anhäufung solcher macht sich besonders im großen Grimmdarm bemerkbar. Der Afterschließer ist etwas erschlafft und weist unwirksame Kontraktionen auf.

Da sich der Zustand des Tieres immer mehr verschlimmerte, beschloß ich, es durch Injektion einer starken Dose Strychnin zu töten. Der Tod trat nach ungefähr 15 Minuten während des ersten, sehr schweren Tetanieanfalles ein und gleich darauf nahm ich die Autopsie vor, bei welcher ich folgenden Befund machte:

Pathologisch-anatomischer Befund. Allgemeinzustand sehr herabgekommen, Fett fast gar nicht vorhanden.

Bauchhöhle. Beim Abhäuten nahm ich schon von außen durch die transparente Bauchwand in den unteren Regionen eine dunkle, längliche Masse wahr, die sich vom linken Hypochondrium bis in die Vorschamgegend erstreckte und fast den Grund der Urocyste berührte. Ich hielt sie für ein Blutgerinnsel, aber nach Eröffnung des Bauches sah ich zu meinem Erstaunen, daß es sich um die Milz handelte.

Sie war sehr voluminös, von pechschwarzer Farbe, morsch, saftreich und ließ beim Einschneiden flüssiges, schwarzes Blut austreten.

Die Leber, die von gelblicher Farbe war und ebenfalls leicht zerfiel, wies eine fettige Degeneration auf.

Der Magen war vollständig leer.

Der erste Darmabschnitt enthielt nur etwas klare Flüssigkeit.

Der Dickdarm dagegen war an seinem Anfang und auf einer Strecke von ungefähr 10 cm mit zähem, gelatinösem Schleim angefüllt, in welchem ich nichts anderes antraf als 5 oder 6 Glieder einer sehr dünnen *Taenia cucumerina*.

Die Schleimhaut des ganzen Verdauungsapparates war blaß.

Die Nieren, die Nebennieren, das Pankreas erschienen makroskopisch normal.

Brusthöhle. Lungen etwas injiziert, Herz diastolisch, Blut flüssig und dunkel.

Nach beendigter Autopsie legte ich vom Blute, von der Leber und Milz Kulturen in flötenschnabelförmig erstarrtem Agar sowie einige mikroskopische Präparate an.

Schon nach 15 Stunden nahm ich in allen Kulturen zahlreiche Kolonieen des Keimes, den ich sogleich beschreiben werde, im Reinzustande wahr.

Merkmale des isolierten Keimes.

Morphologische Merkmale. Bei Prüfung junger Kulturen des Keimes im hängenden Tropfen gewahrt man zu zweien vereinigte oder vereinzelte Stäbchen mit abgerundeten Enden, ferner einige sehr kurze, kokkenähnliche Formen.

Die Bacillen haben eine verschiedene, zwischen 0,8 μ und 2 μ variierende Länge; in alten Kulturen kommen auch sehr lange Involutionsformen vor.

Die Keime besitzen sehr lebhafte Eigenbewegung und behalten diese zumeist auch in alten Kulturen bei.

Es lassen sich Bewegungen in situ und Bewegungen der Ortsveränderung unterscheiden: In situ bemerkt man rotierende und oscillierende Bewegungen, die Bewegungen der Ortsveränderung, die rasch von statten gehen, geschehen in gerader, krummer, geschlängelter, in Zickzack- oder in Spirallinie.

Der von mir isolierte Keim bildet meines Erachtens keine Sporen; denn obgleich ich ihn in den verschiedensten Nährmitteln kultivierte, habe ich solche nie beobachtet.

Diese Beobachtung erfährt eine Bestätigung durch die andere, daß die verschiedenen Kulturen durch nicht sehr hohe Temperaturen (50—60°) abgetötet werden.

Färbungsverhalten. Der Keim färbt sich mit den gewöhnlichen basischen Anilinfarben. Er widersteht weder der Gramschen noch der Claudiusschen Methode. Die Färbung der Kapseln in den Präparaten, die ich aus Materialien aus dem Körper der nach Impfung mit diesem Keime zu Grunde gegangenen Tiere und aus den verschiedensten Kulturen anlegte, ist mir nach den von den Autoren am meisten empfohlenen Methoden nie gelungen.

Geißeln. Der Keim besitzt 6—8 an allen Seiten des Körpers angeheftete Geißelfäden; dieselben sind 2—4mal so lang als der Körper und deutlich gewunden.

Zur Färbung der Geißeln zog ich nach Versuchen mit anderen Methoden die Pitfieldsche[1]) Methode vor, mit welcher ich geradezu glänzende Präparate erhielt.

---

[1]) Die von Pitfield empfohlene Methode, die ich aus einer Arbeit Vogels „Die Seuche unter den Agoni des Lago di Lugano“ (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903. p. 281) kennen lernte, ist sehr einfach.

Man gebraucht dabei folgende Farbflüssigkeit:

Gesättigte Alaunlösung	10 ccm
Gesättigte alkoholische Gentianaviolettlösung	2 „
Wässerige 10-proz. Tanninsäurelösung	10 „

Verhalten gegen die Luft. Der Keim gehört zu den fakultativen Anaërobiern.

Temperaturen, bei denen Wachstum stattfindet. Das Temperaturoptimum liegt bei 30–37°. Bei einer Zimmertemperatur von ungefähr 20° wächst der Keim gut in 48 Stunden; bei 10—15° wächst er kümmerlich und erst am 4. oder 5. Tage gewahrt man Wachstum auf Agar und Gelatine.

Auf Agar, bei einer zwischen 2° und 10° schwankenden Zimmertemperatur, war das Wachstum viel geringer, aber nach mehreren Tagen doch immer wahrnehmbar.

Widerstand gegen Wärme. Die Versuche zur Bestimmung der Widerstandsfähigkeit des Keimes gegen verschiedene Temperaturen nahm ich nach folgender Technik vor:

Ich füllte einen großen, hohen Becher auf etwa $^{3}/_{4}$ mit gewöhnlichem Wasser und stellte ihn auf ein Drahtnetz über einen angezündeten Bunsenbrenner; in das Wasser stellte ich ein sterilisiertes, mit sterilisiertem Wasser gefülltes breites Gläschen.

Sowohl in dem Wasser des Bechers als in dem des Gläschens suspendierte ich ein Thermometer; das leztere Thermometer war vorher mit konzentrierter Salzsäure sterilisiert und mit reichlichem sterilisierten Wasser abgespült worden.

Durch den Hahn am Bunsenbrenner läßt sich mit etwas Achtsamkeit die Temperatur des im Gläschen enthaltenen Wassers, in welchem die Keime auf ihre Widerstandsfähigkeit geprüft werden, auf die gewünschte Höhe bringen.

Die Keime, die ich stets einer 48 Stunden alten in Loefflerscher Bouillon angelegten Kultur entnahm, wurden in Glaspipetten aspiriert, die an einem Ende mit einem Wattebäuschchen versehen und am anderen Ende, an der Flamme, in ein dünnwandiges kapillares Röhrchen ausgezogen worden waren.

Ich war darauf bedacht, daß in die kapillaren Röhrchen möglichst gleich große Emulsionsmengen eingeführt wurden.

Vor Verschließung des spitz zulaufenden Endes wurde die Flüssigkeit durch schwache Aspiration von der Stelle entfernt, die an der Flamme geschmolzen werden sollte.

Diese Röhrchen stellte ich nun in das auf einen bestimmten Grad

---

Nach den Angaben Pitfields bereitet man zunächst eine dünne Bakterienemulsion, indem man eine Platinöse einer jungen Agarkultur in ein Leitungswasser enthaltendes Uhrschälchen bringt. Von dieser Emulsion bringt man dann eine Oese voll zum Trocknen auf Deckgläschen, die durch Kochen in mit Kaliumbichromat versetzter Schwefelsäure (3 g in 100 g Wasser) und nachheriges Ausspülen, zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol, gut gereinigt worden sind. Die Gläschen legt man, mit dem (aber nicht an der Lampe) angetrockneten Material nach oben gewendet, auf ein Netz und träufelt einige Tropfen der Farbflüssigkeit darauf, die man bis zu leichter Dampfentwickelung erwärmt. Hierauf spült man die Präparate ab und untersucht sie.

Bei diesem Verfahren sind die Resultate unzuverlässig und die Präparate enthalten immer viele Präzipitate. Ich modifizierte nun die Methode, indem ich ein Uhrschälchen mit Farbflüssigkeit fast ganz füllte, das Präparat in diese hineintauchte und sie an ganz kleiner Flamme ungefähr 10 Minuten lang erwärmte; dadurch wurde verhütet, daß sich die Flüssigkeit an der Oberfläche unter der Form eines Häutchens verdickte. Nachdem ich die Gläschen behutsam in reichlichem Wasser abgespült hatte, schloß ich sie in Kanadabalsam ein.

Nach diesem Verfahren erhielt ich sehr schöne Präparate von dem von mir isolierten Bacillus, die auch jetzt noch, nach mehreren Monaten, das gleiche Aussehen haben; ebenso schöne Präparate erhielt ich vom Typhusbacillus, vom Bacterium coli, vom Choleravibrio, vom Proteus vulgaris und vom Bacillus pyocyaneus.

erwärmte Wasser, zog sie nach einer gewissen Zeit wieder heraus, brach mit einer an der Flamme sterilisierten Schere die Spitze ab und ließ, an dem mit Watte versehenen Ende blasend, den Inhalt in Bouillonröhrchen fließen.

Aus der nachstehenden Tabelle ersieht man, daß der Keim auch gegen mittelmäßig hohe Temperaturen nicht sehr widerstandsfähig ist. + zeigt an, daß der Keim widerstand, — daß er zu Grunde ging.

Zeit	45°			50°			55°		
	I. Versuch	II. Versuch	III. Versuch	I. Versuch	II. Versuch	III. Versuch	I. Versuch	II. Versuch	III. Versuch
5 Minuten	+	+	+	+	—	—	—	—	—
15 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Um festzustellen, ob in älteren in verschiedenen Nährmitteln gewachsenen Kulturen Sporen existieren, führte ich nach der beschriebenen Technik Versuche bei 60° aus, aber stets fand ich die Keime abgetötet. Handelte es sich um auf festen Substraten gewachsene Kulturen, so schwemmte ich den Belag in destilliertem und sterilisiertem Wasser auf.

Widerstandsfähigkeit gegen Eintrocknung. Um festzustellen, wie lange der Keim im Zustande der Eintrocknung lebensfähig wäre, legte ich Bouillonkulturen an und hielt sie 48 Stunden lang im Thermostaten.

Hierauf schüttelte ich den Inhalt der Gläschen stark, um die Bakterienaggregate zu zerteilen.

Doch nicht zufrieden mit dieser Zerteilung, filtrierte ich die Kulturen durch sterilisiertes Löschpapier, wie es mir Prof. Ottolenghi anriet, der sich für Emulsionen des Milzbrandbacillus dieses Verfahrens schon seit längerer Zeit bedient. Das Filtrat sah ziemlich homogen aus und in der Tat erschienen mikroskopisch die Bakterien zum großen Teil vereinzelt oder zu Gruppen von wenigen Elementen vereinigt.

Eingedenk der von Kitasato[1]) konstatierten Tatsache, daß die Widerstandsfähigkeit der Keime auch zum Teil von der Natur des Materials, auf welchem sie getrocknet werden, abhängt, gebrauchte ich bei meinen Versuchen: Platinfäden, dünne Glasfäden nach Art der von Simonetta[2]) empfohlenen, Löschpapierstückchen und Seidenfäden.

Ich tauchte die genannten Materialien ins Filtrat und brachte sie in einen großen Schwefelsäureexsikkator, wo ich sie im Dunkeln hielt.

Der Keim erwies sich als sehr widerstandsfähig gegen Eintrocknen, denn noch nach 45 Tagen fand in allen Bouillonröhrchen, in welche ich die auf den verschiedenen Materialien getrockneten Keime eingeführt hatte, Wachstum statt.

Bei Kontrollversuchen, die ich mit einer Bacillus coli-Kultur vornahm, war dieser Keim bei Eintrocknung auf Platinfäden schon nach

---

1) Kitasato, Die Widerstandsfähigkeit der Cholerabakterien gegen Eintrocknung und Hitze. (Zeitschr. f. Hyg. 1888.)

2) Simonetta, Intorno alla tecnica per investigare il potere germicida dei fluidi coi germi che resistono all' essiccamento. (Rivista d'igiene e sanità pubblica. Anno IX. 1898. No. 1.)

45 Tagen abgetötet, dagegen bei Eintrocknung auf Glasfäden, Löschpapier oder Seidenfäden nach 45 Tagen noch am Leben.

Kulturelle Merkmale.

Loefflersche Bouillon. In diesem Nährmittel nimmt man, wenn man es bei 30—37° im Thermostaten hält, nach ungefähr 6 Stunden (manchmal auch schon nach 4 Stunden) eine gleichmäßige Trübung wahr. Nach einiger Zeit bildet sich an der Oberfläche der Flüssigkeit konstant ein Häutchen, das dick wird und eintrocknet und bald in Bruchstücke zerfällt, die zu Boden sinken; bald darauf bildet sich ein neues Häutchen, das das gleiche Schicksal erfährt, so daß sich nach nicht langer Zeit ein reichlicher häutchenartiger Niederschlag am Boden der Röhre angesammelt hat.

Das Mittel weist immer alkalische Reaktion auf und verbreitet bei alten Kulturen einen ganz leichten, nicht definierbaren, unangenehmen Geruch.

Gelatine. Der Keim verflüssigt die Gelatine nicht. Bei einer Zimmertemperatur von 20—22° gewahrt man auf Gelatineplatten innerhalb 48 Stunden vollkommen scheibenförmige, scharf konturierte, gelbliche Kolonieen von höchstens 1 mm Durchmesser, die einen blauen Widerschein haben.

Unter dem Mikroskop erscheinen die Kolonieen feinkörnig, mit einem dichteren, exzentrisch sich verlierenden, zentralen Teil. Bei alten Kulturen sieht der zentrale Teil ganz wie ein Kern aus, er wölbt sich vor und ist von einem transparenten, glasfarbigen Hof umgeben, in welchem große dunkle Körnchen zerstreut liegen.

Wenn zwei Kolonieen nahe beieinander liegen, gehen sie nicht ineinander über, sondern platten sich an der betreffenden Stelle ab und nehmen Nierenform an.

In Gelatinestichkulturen beobachtet man ganz kleine, vereinzelte, rundliche, weißgelbe Kolonieen.

An der Oberfläche bildet sich ein nagelkopfförmiger Belag, der sich langsam ausbreitet, aber nie die Wand der Röhre erreicht.

In Strichkulturen auf in Petri-Schälchen erstarrter Gelatine bildet sich dem Impfstrich entlang ein glänzender, gelblicher, bandförmiger Belag.

Agar. In Agarstrichkulturen bildet der Keim einen grauen, blau schimmernden Belag mit scharfen eingebuchteten Rändern.

In Agarstichkulturen findet üppiges Wachstum längs des Impfstiches statt; an der Oberfläche bildet sich ein zuerst feuchter, später trockener, dunkler Rasen, der, sobald er die Wand der Röhre erreicht hat, runzelig wird.

In Agarplattenkulturen kommt es zur Bildung von verschieden großen und verschieden gestalteten Kolonieen. Besonders charakteristisch sind die einen elliptischen Kontur und (1—2—3) henkelförmige seitliche Ausläufer aufweisenden Kolonieen.

Flötenschnabelförmig erstarrtes Serum. Innerhalb 48 Stunden kommt es zur Bildung eines ausgedehnten, eingebuchteten, grauen Belages von gelblichem Widerschein.

Kartoffeln. Auf Kartoffeln bildet sich ein dicker, saftreicher, graugelber Belag; mitunter ist der Belag fahlgrau und nimmt fast die Farbe der Kartoffel an, hierin an den Typhusbacillus erinnernd.

Biochemische Merkmale.

Wirkung auf stickstoffhaltige Stoffe.

Pepton. Prüfung auf Indolreaktion. An Kulturen, die in Bouillon oder in mit 1—5 Proz. Pepton versetztem Wasser angelegt worden waren, nahm ich, nachdem ich sie 1—15 Tage lang im Thermostaten bei 35—37° gehalten hatte, nach der Kitasatoschen und der Crisafullischen Methode die Indolprüfung vor.

In keinem Falle gab der Keim die Indolreaktion.

Gekochtes Eiweiß. Aus ganz frischen, hart gesottenen Eiern nahm ich das Eiweiß, zerschnitt es in Würfelchen mit scharfen Kanten und Ecken und schüttete diese in Bouillon oder in mit 1 Proz. Pepton versetztes Wasser. Weder in dem einen noch in dem anderen Falle war nicht einmal nach 10 Tagen das Eiweiß durch die Produkte des Bacillus angegriffen worden.

Nitrate. Grimbert[1]), der die schon durch Untersuchungen früherer Forscher bekannte denitrifizierende Wirkung der Keime studierte, teilte diese in 2 Kategorieen: Die Kategorie der direkt und die der indirekt denitrifizierenden Keime.

Direkt denitrifizierende Keime nannte er diejenigen, die Stickstoff aus Nitraten in peptonisiertem Wasser zu entbinden vermögen, indirekte denitrifizierende dagegen die Keime, die nur bei Vorhandensein von Stärkemehl in der Bouillon Stickstoff entbinden.

Ich bereitete nun nach den Angaben von Grimbert zwei Nährmittel, nämlich:

1)	Reines salpetersaures Kali	1
	Pepton	1
	Destilliertes Wasser	100
2)	Reines salpetersaures Kali	1
	Loefflersche Bouillon	100

In die diese Kulturflüssigkeiten enthaltenden Gläschen führte ich eine kleine, am Halse abgeschnittene und genau mit der entsprechenden Flüssigkeit gefüllte Glasphiole[2]) umgestülpt ein, um in derselben das Gas aufzufangen, wenn sich aus dem Zerfall des Nitrates solches entwickelte.

Durch wiederholte Versuche stellte ich fest, daß der von mir isolierte Bacillus nur in nitrathaltiger Loefflerscher Bouillon Gärung bewirkt; er wäre also zu den indirekt denitrifizierenden Keimen zu zählen.

Ich wollte nun feststellen, ob das Nitrat in Nitrit verwandelt würde und verwendete zu diesem Zwecke das Griesssche Reagens, das sich aus zwei Lösungen zusammensetzt:

Lösung A.	Chlorwasserstoffsaures Naphtylamin	0,20 g
	Salzsäure	1 ccm
	Destilliertes Wasser	100 „
Lösung B.	Sulfanilsäure	1 g
	Destilliertes Wasser	100 ccm

Ich setzte der Kultur 1 ccm der Lösung A und 1 ccm der Lösung B zu.

---

[1]) Grimbert, Diagnostic des bactéries par leur fonctions bio-chimiques. [Thèse.] Paris 1903. Mars.

[2]) Diese Phiolen leisten bessere Dienste als die Röhren, deren sich Vogel (l. c.) zum Studium der gasogenen Eigenschaften der Keime bediente.

Die Kulturen in den beiden Nitrate enthaltenden Mitteln färbten sich bei diesen Versuchen stets intensiv rot, ein Zeichen, daß Nitrite vorhanden waren.

Natürlich machte ich Kontrollversuche mit dem nicht infizierten Nährmittel.

Wirkung auf nicht stickstoffhaltige Kohlenstoffverbindungen.

Um die Wirkung der Mikroorganismen auf die Kohlehydrate zu studieren, bediente Grimbert[1]) sich folgenden Nährmittels:

Reines Kohlehydrat	2	g
Pepton	0,50	„
Destilliertes Wasser	100	„

Man läßt alles in einer Porzellankapsel kochen; nach erfolgter Lösung setzt man von kohlensaurem Natron freien, reinen, kohlensauren Kalk in kleiner Menge zu und läßt 5 Minuten weiter kochen. Hierauf filtriert man und stellt mittels Lackmustinktur fest, ob die Flüssigkeit neutrale Reaktion gibt.

Man gießt die Lösung in die Proberöhren und sterilisiert sie 15 Minuten lang bei 110°.

Nach Erkaltung setzt man in jede Röhre $^1/_2$—1 ccm Lackmustinktur[2]) zu, die vorher sterilisiert worden ist.

Dieses Nährmittels bediente ich mich gleich, nachdem ich Grimberts Arbeit gelesen hatte. Zu den ersten Versuchen hatte ich dagegen folgendes Mittel verwendet:

Kohlehydrat	1	g
Wittes Pepton	1	„
Destilliertes Wasser	100	„

Ich kombinierte nun die von Vogel zum Studium der gasogenen Eigenschaften der Keime angewendete Methode, deren ich schon erwähnte, mit dem Gebrauche des mittels Lackmustinktur gefärbten Grimbertschen Nährmittels, da nicht immer mit der Bildung saurer Substanzen Gasentwickelung stattfindet.

In die die Kulturflüssigkeiten enthaltenden Röhren führte ich deshalb vor der Sterilisation eine am Halse abgeschnittene, gut hineinpassende Phiole von ungefähr 5 ccm Inhalt umgestülpt ein. Diese Phiolen schwimmen an der Oberfläche, aber nachdem sie zur Sterilisation im Autoklaven einer Temperatur von 110° ausgesetzt worden sind, füllen sie sich beim Erkalten vollständig, so daß außen nur wenig Flüssigkeit zurückbleibt. Diese dient zur Impfung des Mittels, die mittels einer Platinnadel vorgenommen wird.

Bei Beurteilung, ob in dem Mittel, das ich zuerst gebrauchte, das Kohlehydrat vom Keime angegriffen worden sei, stützte ich mich also auf die Gasansammlung in der Phiole und die mittels Lackmuspapiers vorgenommene Reaktionsprüfung des Mittels; bequemer ließ sich die Wirkung des Keimes bei Gebrauch der Grimbertschen Flüssigkeit feststellen, in welche ich die Phiolen getaucht hatte, denn man konnte die Gasentwickelung und das Rotwerden der Flüssigkeit zugleich beobachten.

Die Kohlehydrate, auf welche ich den Keim wirken ließ, sind:

---

1) l. c.

2) Ich verwendete nach Tiemann bereitete Lackmustinktur.

Von den Esosen: Die Glukose.

Von den Esobiosen: Die Saccharose, die Maltose und Laktose.

Von den Pentosen: Das Dextrin und die Reis- und Kartoffelstärke.

Die gleichen Untersuchungen nahm ich an zwei polyatomischen, den Kohlehydraten in der Zusammensetzung sehr nahestehenden Alkoholen, nämlich am Glycerin und Mannit, vor.

Glukose. Die Glukose und Laktose sind die Kohlehydrate, mit denen ich mich am eingehendsten beschäftigte, denn ich studierte nicht nur deren Zersetzung, sondern auch den Einfluß, den die Produkte, die in den mit diesen beiden Kohlehydraten versetzten Nährmitteln entstehen, auf den Keim haben.

Die Glukose wird innerhalb 24 Stunden durch die Bildung von Gasen und Säuren leicht angegriffen.

Der Keim bleibt, wenn er in mit 2 Proz. Glukose versetzter Bouillon kultiviert wird, nur wenige Tage nach der Säureentwickelung am Leben; denn impft man am 7. oder 8. Tage eine Oese Kultur in eine Bouillonröhre, so bleibt diese steril.

Saccharose. Dieselbe gibt in dem Kulturmittel des von mir isolierten Mikroorganismus weder zu Säure- noch zu Gasbildung Anlaß.

Invertierung der Saccharose. Die Invertierung der Saccharose durch die Keime ist besonders von Sclavo[1]), Fermi[2]) und später von Fermi und Montesano[3]) studiert worden.

Sclavo bediente sich der Invertierung zur Differentialdiagnose zwischen den Choleraspirillen.

Er nahm wahr, daß die Acidität, die sich in mit Zucker versetzter Bouillon bildet, die Reaktion des invertierten Zuckers verhindert und suchte nun diese Acidität zu neutralisieren. Zu diesem Zwecke machte er entweder die Bouillon vorher stark alkalisch oder setzte ihr mehr oder weniger unlösliche Substanzen (kohlensauren Kalk oder gebrannte Magnesia) zu, die die sich bildenden Säuren zu neutralisieren vermochten. Diese Kulturen filtrierte er durch Papier, um den kohlensauren Kalk oder die Magnesia auszusondern und suchte dann im Filtrat mittels des Nyländerschen Reagens den invertierten Zucker auf.

Fermi, der das gleiche Vermögen an 62 Mikrobenarten studierte, fand, daß nur der Bacillus megatherium und der Kielsche Bacillus die Saccharose invertieren; aber er ließ die inhibitorische Wirkung der in der Kulturbouillon entstandenen Acidität außer acht, welcher Sclavo hingegen eine große Bedeutung bei der Reaktion beigemessen hatte.

Bei dem in Rede stehenden Keime befolgte ich die von Sclavo angewendete Technik. Einer nicht peptonisierten Rindfleischbrühe setzte ich im Augenblicke, wo ich sie verteilte, 2 Proz. ganz reine Saccharose zu (denn wie ich bereits sagte, erfährt ein mit Saccharose versetztes Nährmittel keine Säurung durch den Keim), sterilisierte sie 15 Minuten lang bei 120° und nahm die Aussaat vor. Die Prüfung auf invertierten Zucker nahm ich täglich vor, indem ich zu ungefähr 10 ccm Kultur

---

[1]) Sclavo, Di alcune nuove proprietà dello spirillo colerigeno di Koch e degli spirilli affini di Metschnikoff, di Finkler e di Deneke. (Riv. d'igiene e sanità pubblica. 1892. No. 18.) — Di alcune differenze esistenti fra gli spirilli del colera isolati in diverse epidemie. (Soc. I. S. P. 1892. p. 545—553.)

[2]) Fermi, Sul potere diastasico ed inversivo dei bacteri. (Ann. dell' Ist. d'igiene sper. d. R. Univ. di Roma. Vol. II. Nuova serie. Fasc. 2. p. 117.)

[3]) Fermi e Montesano, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 482 ff.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

1 ccm des Nyländerschen Reagens zusetzte und den oberen Teil der Flüssigkeitssäule über einem Bunsenbrenner bis zu Siedehitze erwärmte.

Bei Vorhandensein von invertiertem Zucker tritt zuerst gelbe Färbung auf, die bei längerer Wärmeeinwirkung fast ins Schwarze übergeht. Verfährt man in der angegebenen Weise, so braucht man nur den oberen Teil der Bouillonsäule mit dem unteren, nicht erwärmten zu vergleichen, um den Unterschied in der Färbung wahrzunehmen.

In den Kulturen meines Keimes traf ich auch nicht nach 10 Tagen invertierten Zucker an.

Maltose. Das mit Maltose versetzte Nährmittel wird bald rot und weist Gasentwickelung auf.

Laktose. In 1 Proz. Pepton enthaltendem, mit 1 Proz. Laktose versetztem Wasser findet weder Gas- noch Säurebildung statt.

In dem nach Grimberts Angaben bereiteten Nährsubstrat (2 Proz. Laktose, 0,50 Proz. Pepton) dagegen kommt es bald zu Gas- und Säurebildung.

In mit 2 Proz. Laktose versetzter Loefflerscher Bouillon findet weder Gas- noch Säurebildung statt. Untersucht man die Kultur nach 2 Monaten am hängenden Tropfen, so sieht man, daß manche Keime noch sehr beweglich, andere zusammengeklumpt sind; überträgt man eine Oese dieses Materials in neue Bouillon, so findet üppiges Wachstum statt.

Bemerkenswert scheint mir die Tatsache, daß in mit 2 Proz. Laktose versetzter Bouillon angelegte Kulturen nach wenigen (3—7) Tagen eine charakteristische orangegelbe Färbung annehmen, die auch nach 3 Monaten unverändert fortbesteht.

Wie wir sehen, zeigt der Keim in den drei mit Laktose versetzten Mitteln, in denen ich ihn kultivierte, ein verschiedenes Verhalten; wovon hängt dies ab?

Eine Erklärung für die wahrgenommenen Erscheinungen läßt sich meines Erachtens finden, wenn man diese verschiedene Wirkungsart mit der Zusammensetzung der 3 Kulturböden in Beziehung bringt. Gärung findet nur dort statt, wo im Vergleich zur Kohlehydratmenge nur wenig Pepton vorhanden ist (Pepton 0,50 Proz., Laktose 2 Proz.); wohingegen der Keim inaktiv bleibt, wenn er in einem Nährboden wächst, in welchem Pepton und Laktose in gleicher Menge sich finden (Pepton 1 Proz., Laktose 1 Proz.) oder wenn das Kohlehydrat in Loefflerscher Bouillon aufgelöst wird.

Ich möchte deshalb annehmen, daß der Keim stickstoffhaltige Nahrung vorzieht, daß er aber, wenn er in einen des Stickstoffes ermangelnden Nährboden gebracht wird, sich diesem anpaßt und auch mit Kohlehydratkost vorlieb nimmt.

Dextrin. Dem Dextrin gegenüber zeigt der Keim das gleiche Verhalten wie der Laktose gegenüber, d. h. das Kohlehydrat wird nur in einem 0,50 Proz. Pepton und 2 Proz. Dextrin enthaltenden Nährsubstrat angegriffen.

Stärke. Weder Reis- noch Kartoffelstärke wird von dem von mir studierten Keime angegriffen.

Glycerin. Durch zahlreiche Versuche stellte ich fest, daß das Glycerin von meinem Keime auch dann nicht angegriffen wird, wenn man die Kulturen viele Tage lang im Thermostaten bei 37° hält.

Denn das Mittel bleibt violett gefärbt und Gasentwickelung findet nicht statt.

Mannit. Der Mannit wird sehr bald zersetzt, schon nach 24 Stunden beobachtet man Rotwerden der Flüssigkeit und reichliche Gasansammlung.

Kurz zusammengefaßt: Der in Rede stehende Keim bringt Mannit, Glukose und Maltose zur Gärung und unter gewissen Verhältnissen auch Laktose und Dextrin; dagegen hat er auf Glycerin, Saccharose, Reis- und Kartoffelstärke und unter gewissen Verhältnissen auch auf Laktose und Dextrin keine Wirkung. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art?

Antwort an Dr. Erich Cohn.

Von Dr. Vilh. Jensen.

In dem XXXVI. Bande dieser Zeitschr., p. 369—379, hat Dr. Erich Cohn, der früher über die Kleinsche Hefe geschrieben hat, versucht, verschiedene der Resultate umzustürzen, zu denen ich hinsichtlich dieser Hefeform gekommen bin.

Seine Beschuldigung, persönliche Angriffe gegen ihn gerichtet zu haben, hoffe ich am besten dadurch zurückweisen zu können, daß ich eine Uebersetzung der betreffenden Stelle meines Buches hier folgen lasse:

> „7. **Kleins Hefe.** Diese Hefeform ist von Klein, der in London Milch systematisch auf pathogene Mikroorganismen hin untersuchte, gefunden worden.
>
> Mit seinen Mitteilungen habe ich mich leider nur durch ein unvollständiges Referat von E. Cohn bekannt machen können; dieser hat zwei ziemlich mangelhafte Mitteilungen über seine Versuche mit diesem Hefepilze gegeben.
>
> Nach diesen Versuchen sind die Hefezellen rund, sie wachsen gut auf Bierwürzeagar mit gelbbrauner Farbe, besser bei 37° als bei Zimmertemperatur.
>
> Sie bilden keine Sporen und rufen in Dextrose, Laktose, Maltose und Saccharose keine Gärung hervor.
>
> Zum Unterschiede von Busses Hefe wird hervorgehoben 1) die gelbbraune Farbe der Kulturen im Gegensatz zur „blendend weißen“ bei Busses Hefe, 2) das Fehlen der Gärungsfähigkeit. Wie man unten sehen wird, bedeuten diese Unterscheidungsmerkmale doch nichts.
>
> Klein hat 2 Mäuse geimpft, von welchen die eine nach 48 Stunden starb.
>
> Meerschweinchen bekamen nach subkutaner Impfung Knötchen und Abscesse, nach intraperitonealer Impfung starben sie. Bei 2 Kaninchen wurden durch intravenöse Impfung Paraplegieen hervorgerufen, und man fand die Hefezellen besonders im Rückenmark.
>
> Im tierischen Gewebe nehmen die Hefezellen ein ähnliches Aussehen an, wie es bei den früher erwähnten Formen beschrieben worden ist, und außerdem findet man zahlreiche kurze Fäden.
>
> Cohn hebt als besonderes Unterscheidungsmerkmal die Kapsel hervor, welche im Gewebe gebildet wird.
>
> Die von Cohn intraperitoneal geimpften Mäuse starben anfangs nach 4, 8 und 10 Tagen, nach subkutaner Impfung lebten sie noch längere Zeit, mittels Passage wurde die Zeit zu 4 Tagen bei intraperitonealer und zu 7 Tagen bei subkutaner Impfung abgekürzt. Ließ man die Kulturen längere Zeit stehen, ohne Impfungen damit vorzunehmen, so wurde die Lebenszeit wieder länger.
>
> Alle, „über vierzig“ geimpften Mäuse starben schon nach $^1/_{1000000}$ Teile einer Oese, welcher ungefähr 10—20 lebensfähigen Zellen entspricht.
>
> Bei den Mäusen fand man besonders die Lungen angegriffen. Das Verhalten der Meerschweinchen bei Impfung ist nicht deutlich dargestellt. Es scheint, daß alle intraperitoneal geimpften Tiere nach ungefähr 3 Wochen starben, sowie einige der subkutan geimpften. Diese letzteren bekamen Infiltrationen an der Impfstelle und Bubonen. Außerdem trat Geschwulst der Augenlider und der Schleimhäute der Nase auf, sowie blutige Diarrhöe.

Brachte man etwas von einer Kultur in den Konjunktivalsack hinein, so wurden heftige Entzündungen, mehrmals sogar der Hornhaut, hervorgerufen.

Bisweilen bildete sich die Entzündung zurück, bisweilen starben die Tiere an allgemeiner Infektion.

Einigemale sah man auch Lähmungen der Hinterbeine und entsprechende Knoten im Rückenmark und Hirn. Dasselbe wurde bei (allen?) intravenös geimpften Kaninchen gefunden. Nur bei einem wurde makroskopisch ein Knoten im Hirn beobachtet und bei einem anderen eine Blutung im Rückenmark.

Von einigem Interesse ist, daß Cohn angibt, daß Hefezellen im Gewebe sich nach der von Russell für fuchsinophile Körper angegebenen Methode färben lassen. Dies stimmt, wie Cohn selbst hervorhebt, nicht mit Sanfelices Angaben überein, nach welchen sich die Hefezellen nur unter gewissen Umständen wie Russells Körper verhalten, und es stimmt auch nicht mit meinen Erfahrungen überein. Schon ehe ich Cohns Mitteilungen gelesen, hatte ich die erwähnte Methode an Sanfelices Hefeformen versucht, hatte sie aber wieder als unbrauchbar aufgegeben. Auch später an Kleins Hefe wiederholte Versuche mißglückten.“

Dies wird hoffentlich genügen, um zu zeigen, daß Dr. Cohns Beschuldigung, ich sollte „persönliche Angriffe“ gegen ihn gerichtet haben, vollständig aus der Luft gegriffen ist.

Dr. Cohn wirft mir vor, mit einer „nicht gewöhnlichen Schärfe der Kritik“ geschrieben zu haben; aber auf dem Gebiete der pathogenen Hefeformen ist eine scharfe Kritik besonders notwendig, und gerade Dr. Cohns obengenannter Artikel ist ein Beweis dafür, daß ich nicht scharf genug gewesen bin.

Er hat nämlich ganz übersehen, daß ich meinen Resultaten direkte vergleichende Untersuchungen zu Grunde gelegt habe, während er, wie er auch selbst an erwähnter Stelle p. 371 einräumt, nur „auf Grund seiner Kenntnisse der damals vorliegenden Literatur die Behauptung aufgestellt hat, daß die von Klein entdeckte Hefe von allen bisher beschriebenen Arten verschieden sei“. Und nicht einmal jetzt, wo er meine Resultate angreift, hat er es für nötig gehalten, Nachuntersuchungen vorzunehmen, sondern er wiederholt ganz einfach seine früheren Behauptungen.

Wenn zur Feststellung der Identität verschiedener Hefeformen „eine exakt durchgeführte Gegenüberstellung der betreffenden Hefen hinsichtlich ihrer morphologischen, kulturellen, biologischen und pathogenen Eigenschaften nötig ist“, dann erfordert dies die „Differenzierung“ in noch höherem Grade.

Dr. Cohn unterschätzt im Gegenteil die mit der Diagnose der Hefeformen verbundenen Schwierigkeiten, indem er meint, sich mit den in der Literatur vorhandenen Beschreibungen einer Hefeform begnügen zu können; aber, wie bekannt, ist die Variabilität gerade dieser niedrigen mikroskopischen Organismen innerhalb derselben Species so groß, daß es für den einzelnen Forscher, um mit Sicherheit arbeiten zu können, absolut notwendig wird, sich Kulturen der einander nahestehenden Formen zu verschaffen, welche er zu vergleichen wünscht.

Dies ist, was ich an 13 pathogenen Formen durchzuführen versucht habe, und die dabei gefundenen Resultate lassen sich nicht durch Dr. Cohns literarische Betrachtungen umstoßen.

Durch solche vergleichende Untersuchungen konnte ich nachweisen, daß Kleins Hefe auf allen den vielen verschiedenen Nährböden genaue Uebereinstimmung mit mehreren der früher gefundenen zeigte, daß die Form und das mikroskopische Aussehen in Kulturen und im Gewebe ebenfalls dasselbe ist, und außerdem, daß sie, auf Tiere eingeimpft, ähnliche Resultate gibt.

Wenn Dr. Cohn früher und jetzt wieder in dem genannten Artikel sagt, daß die Bildung von Knötchen im Zentralnervensystem und die dadurch in einzelnen Fällen hervorgerufenen Lähmungen für die Kleinsche Hefe spezifisch sind, so ist dies, wie ich früher gezeigt habe, ganz einfach nicht richtig.

Ich habe nie bestritten, daß die Kleinsche Hefe in Hirn und Rückenmark verschiedener Versuchstiere Knötchen und dadurch Lähmungen hervorrufen kann; ich schrieb nur, daß ich dies bei meinen Versuchen nicht gefunden hatte. Aber daß es nicht möglich sein sollte, sie durch Anwendung anderer Dosen, als die von mir verwendeten hervorzurufen, habe ich nie behauptet; im Gegenteil, es dünkt mich wahrscheinlich, weil ich ähnliche Knötchen im Hirn sämtlicher Meerschweinchen, welche nach Impfung mit Sanfelices verschiedenen Hefeformen starben, und außerdem im Rückenmark eines intravenös mit Sanfelices Hefe geimpften Kaninchens, welches mit Lähmung des Hinterkörpers starb, gefunden habe. Außerdem habe ich bei 3 mit Busses Hefe geimpften Meerschweinchen Lähmungen des Hinterkörpers gesehen und genau beschrieben, und Curtis, Busse, Petersen und Exner haben gezeigt, daß Curtis Hefen sich mit Vorliebe im Zentralnervensystem ansiedeln.

Die Knötchen hier und die Lähmungen sind demnach, wie ich gezeigt habe, nicht für die Kleinsche Hefe spezifisch, und es ist ganz unverständlich, wie Dr. Cohn es wagt, so vielen Forschern gegenüber das Gegenteil zu behaupten; und was vom Zentralnervensystem gilt, gilt auch von den Konjunktivalaffektionen und den Knötchen in den Regenbogenhäuten. Keines von diesen Phänomenen ist für die Kleinsche Hefe spezifisch; sie treten das eine Mal nach dem anderen bei Tieren auf, welche mit Sanfelices, Plimmers und Kleins Hefe geimpft worden sind, und diese positiven Resultate lassen sich wirklich nicht durch eine einfache Verneinung umstoßen.

Wenn Dr. Cohn sich darüber verwundert, daß Busse, Sternberg u. A. nicht die Augenbindehauterkrankungen bei den mit Sanfelices und anderen Hefeformen geimpften Tieren gesehen haben, ist es doch merkwürdiger, daß er sich nicht darüber wundert, daß Klein sie nicht bei den Tieren bemerkt hat, welche mit seiner eigenen Hefeform geimpft worden sind, obgleich doch diese Veränderungen der Conjunctiva nach Cohns Meinung ganz spezifisch sein sollen. Dagegen hat Klein nach subkutaner Impfung Knoten beobachtet, welche Cohn nicht gesehen hat, welche ich aber, im Gegensatze zu der betreffenden Bemerkung Dr. Cohns, gefunden und p. 73 erwähnt habe (bis zur Größe von Datteln). Es zeigt sich gerade hier, daß man bei der Beurteilung der Resultate nicht allein großes Gewicht auf die einzelnen Befunde bei den geimpften Tieren legen darf, wenn nicht ganz genaue Angaben über die Größe der Tiere, die eingeimpfte Menge, das Alter der Kulturen etc. mitfolgen.

Daß Dr. Cohn die Kapseln als etwas besonderes für die Kleinsche Hefe anführen kann, zeigt, daß er nicht einmal die Literatur über die pathogenen Hefen beherrscht, denn schon in Sanfelices ersten Mitteilungen über Saccharomyces neoformans wird darauf aufmerksam gemacht, daß die Hefezellen ganz verschieden in Kulturen und im Gewebe aussehen, und daß sie im letzteren sehr oft mit einer Kapsel versehen sind.

Obgleich alle von ihm als spezifisch angeführten Erkennungsmerkmale nicht spezifisch sind, und obgleich er keine neuen Fakta meinen Resultaten gegenüber verzeichnen kann, wagt er es doch, zu schreiben, „daß er nach wie vor seine Ansicht aufrecht erhalte, daß die Kleinsche Hefe die einzige Art ist, welcher die Eigenschaft zukommt, sich bei verschiedenen Tierspecies mit Vorliebe im Zentralnervensystem anzusiedeln und dadurch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle charakteristische Erscheinungen auszulösen“.

Wenn Dr. Cohn ferner schreibt, daß er sich insbesondere nicht denken kann, „daß es Sanfelice .... entgangen sein sollte, wenn die verschiedenen von ihm beschriebenen Hefearten tatsächlich miteinander identisch wären“, ist es sehr tragisch für ihn, daß Sanfelice in einer seiner letzten Arbeiten, welche nach Beendigung der meinigen herauskam, schreibt: „Ich habe Gelegenheit gehabt, vier pathogene Blastomyceten vergleichend zu studieren, und ich halte es daher für angezeigt, ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften zu beschreiben, um ihre Identität festzustellen.“ Diese vier waren Sacharomyces neoformans, Saccharomyces lithogenes, eine Hefe von einem Adenocarcinoma ovarii (No. 3 bei mir) und Plimmers Hefe. Ferner schreibt Sanfelice: „Es ist sicher von Interesse, vier pathogene Blastomyceten gänzlich verschiedenen Ursprunges miteinander zu vergleichen. Derartige Untersuchungen können allen denjenigen Forschern nützlich werden, welche diese pathogenen Mikroorganismen in den bösartigen Geschwülsten und in dem umgebenden Medium aufsuchen“ [1]).

Das einzige in Dr. Cohns Artikel, welches mir von wirklichem Interesse zu sein scheint, ist seine Schlußbemerkung über den nivellierenden Einfluß der Zeit. Diese Zusammenstellung der modernen demokratischen Bewegungen mit der Identifizierung gewisser pathogener Hefeformen wird immer bleibenden Wert behalten!

Nachdruck verboten.

Blastomyceten im Urin.

Von Dr. **Vedeler** in Christiania.

Mit 51 Figuren.

Ohne Zweifel, sagt Sanfelice, wird ein Teil der Blastomyceten durch den Urin ausgeschieden. Klug hat seinen Meruliocyt im Urin nachgewiesen, die Untersuchungen müssen jedoch als für Blastomyceten im ganzen genommen gelten.

Um zu wissen, nach was man im Urin der Krebspatienten suchen soll, ist es notwendig, die Formen zu kennen, die sich in den Krebsgeschwülsten vorfinden. Ueber diese herrscht nun Uneinigkeit. Was einzelne noch Protozoen nennen, heißen andere Blastomyceten, wieder andere Zellendegenerationen. Der erhärtete gefärbte Schnitt hat keine Einigkeit gebracht. Das Resultat der Kultur kann dies möglicherweise tun.

Klug empfiehlt eine Pepsinlösung als Kulturmedium, gibt jedoch

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. p. 364—397 (p. 378).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

keine bestimmte Formel. Ich habe 3 g kristallisiertes Pepsin in 100 g destilliertem Wasser aufgelöst. In eine solche Portion gab ich ein 1,5 ccm großes Stück eines Krebsuterus, in eine andere ein Stück einer Cancerovarie, in eine dritte ein solches von einem Sarkom. Die zwei ersten Portionen haben in den beiden ersten Tagen in einem Thermostaten, später in gewöhnlicher Zimmertemperatur gestanden, die dritte vom Beginn an nur in solcher. Nach 10--14 Tagen war in allen ein weißgrauer Bodensatz. Ein wenig davon wurde mittels einer Pipette herausgeholt, nicht zu dünn über ein Objektglas in einer Ausdehnung ausgebreitet, die einem Deckglas von 24×31 mm entspricht, um nicht zu viele Präparate anfertigen zu müssen, wurde sodann an der Luft getrocknet, darauf flambiert und dann vorsichtig mit einigen Tropfen der Lugolschen Flüssigkeit übergossen, welche, wie ich sehe, Schöller und Klug auch gebraucht haben. Nachdem die Flüssigkeit einige Minuten über dem Präparat gestanden hatte, wurde sie abgegossen und jetzt wurde wieder an der Luft getrocknet, nicht an der Spirituslampe, da das Jod sonst verdampft. Ueber das wohlgetrocknete Präparat wird Kanadabalsam getropft und darüber kommt das Deckglas. Man untersucht bei 3—400-facher Vergrößerung des Diameters (Zeiss D, Okular 2) und wird da einen Teil der auf mitfolgender Tafel gezeichneten Figuren zu sehen bekommen. Dieselben sind meistens ganz schwarz, seltener blauschwarz oder braunschwarz, am seltensten gelbbraun oder klar und ohne Farbe.

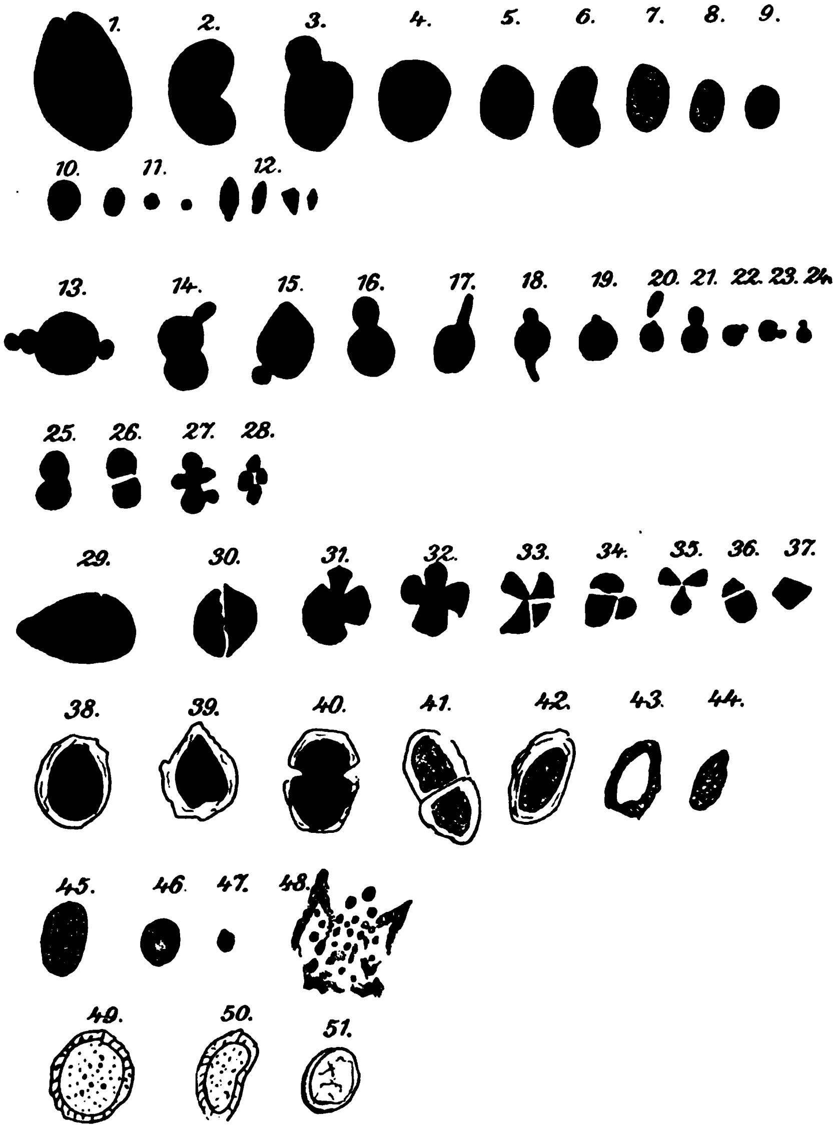
Die Figuren 1—12 sehen wie flachgedrückte Blasen aus mit gleichmäßiger Kontur. Ihre Größe kann nach No. 10 beurteilt werden, welche die Größe eines roten Blutkörperchens hat. Es sind keine Zeichnungen auf der Oberfläche zu sehen, ausgenommen bei No. 7 und 8, wo man an Kerne denken könnte, wenn es nicht nur eine Einbuchtung der Oberfläche ist (Klug). Die Figuren 12 sind möglicherweise nur zufällige Formen, entstanden aus mehreren runden. Daß diese verschiedenen Figuren wirklich Blastomyceten sind, sollen die Figuren 13—28 zeigen, indem man Tochterzellen, zeitweise an mehreren Stellen der Peripherie der Mutterzelle, hervorkeimen sehen kann.

Die Figuren 29—37 sind Zerfallsprodukte, wo im ersten Stadium ein kleiner Sprung in der Peripherie zu sein scheint, der schließlich durch die ganze Zelle geht und diese in zwei halbmondförmige Stücke teilt. Oder es entstehen Sprünge an mehreren Stellen auf einmal (Fig. 32) und die Zelle wird in unregelmäßige Stücke geteilt, wovon einzelne ganz 4-kantig und wenig den ursprünglichen runden oder länglichen Formen ähnlich sind.

Bei den Figuren 38—47 sind die Blastomyceten von einer Kapsel umgeben. Bei den ersten 3 ist die Mittelpartie schwarz gefärbt wie in allen früheren Zeichnungen, aber in den letzten 4 ist die Farbe licht mahagoni. Dies beruht, glaube ich, auf einer Degeneration, denn ich habe in dem fertigen Präparat große, runde oder längliche Formen, deren Platz ich am Deckglase angemerkt hatte, nach und nach ihre schwarze Farbe verlieren und durch Braunschwarz zu Lichtbraun übergehen sehen.

In Figur 48 sieht man Reste von Kapseln, zwischen diesen sehr kleine, runde Formen; möglicherweise sind dies selbst endogene Sporen, wie besonders Bra meint.

Die Figuren 45—47 sind die gewöhnlichen runden oder ovalen Formen, die durch Veränderung der Zellmembran und des Protoplasmas bräunlich gefärbt wurden, wovon die Vakuolenbildung in Figur 47 möglicherweise ein Zeichen sein kann. Figur 49—51 endlich ist das letzte Stadium von Degeneration, bevor die Blastomyceten vollständig verschwinden und sich als eine kleine, zusammengeschrumpfte Blase zeigen.


1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
38.
39.
40.
41.
42.
43.
44.
45.
46.
47.
48.
49.
50.
51.

Alle diese Formen, selbst die Zerfallsprodukte, die ich gezeichnet habe nach dem, was ich durch mannigfaltige Untersuchungen in älteren Kulturen gesehen habe, habe ich auch in den erhärteten und farbigen Schnitten gesehen. Daß diese letzteren nur Degenerationen des Zellengewebes sein sollten, darauf kann ich deshalb durchaus nicht eingehen. Degenerationen gibt es wohl, aber neben diesen den fremden Gast. Da es so leicht glückt, denselben zu kultivieren, was bis dato, so viel ich weiß, nicht mit Protozoen der Fall ist, spricht wohl auch dies dafür, daß es ein pflanzlicher Parasit ist.

Um den Urin zu untersuchen, ließ ich denselben, so weit möglich, durch den Katheter in ein trichterförmiges Uringlas von 100 g Volumen fließen, ihn dann 10—12 Stunden stehen, goß die obersten 75 g weg und zentrifugierte die zurückgebliebenen 25 g. Vom Bodensatze machte ich Trockenpräparate wie bei Kulturen und untersuchte bei derselben Vergrößerung. Es fanden sich nicht viele Figuren in dem einzelnen Felde, häufiger Zerfallsprodukte, aber ich gab mich nie zufrieden, bevor ich ganze Formen gefunden hatte.

Um mich nicht selbst zu narren, hatte ich Kollegen um Urin von sicheren Krebskranken gebeten. Im bekam Urin von 13 solchen: 4 Canceruteri, 3 Cancerventriculi, 1 Cancermammae, 1 Cancerrecti, 1 Cancerrenis, 1 Cancroideus cruris, 1 Sarcoma humeri. Der 13. war ein Mann, bei dem vor 10 Jahren ein Cancer linguae exstirpiert worden war, jetzt war Rezidiv in 2 Drüsen unter der Maxilla inferior. Bei allen fanden sich Parasiten im Urin. Dies zeigt wohl noch mehr, daß das, was ich in den Schnitten gesehen habe, nicht alles Degenerationen des Zellengewebes waren, die unverändert Blut und Urin passiert haben sollten.

Dies ist jedoch nur die positive Seite der Frage, die negative soll nicht übersprungen werden. Ich untersuchte den Urin bei 13 meiner eigenen, nur gynäkologischen Patienten. Bei keinem fanden sich Parasiten im Urin. Die Patienten waren ausschließlich Frauen. Ich nahm mir deshalb vor, das Verhältnis beim Manne zu untersuchen, aber da ich in den letzten 25 Jahren 15 meiner mir bekannten Kollegen durch Krebs verloren habe, bekam ich Urin von 13 Aerzten. Bei zweien von diesen, welche vollständig gesund waren, fanden sich Blastomyceten im Urin. Bei dem einen war Krebs in der Familie, bei dem zweiten nicht. Dies war ja überraschend beim ersten Anblick, aber selbst wenn Blastomyceten ein Krankheit bringender Faktor sind, können sie doch im Organismus vorhanden sein, ohne sich sofort auf deutliche Weise geltend zu machen. Der eine der Aerzte hatte Krebs in der Familie. Man spricht oft davon, daß derselbe erblich ist, aber dieser Begriff kann nun so viel verdecken, daß es wohl am richtigsten ist, nur zu sagen, daß Cancer oft vorkommt, wo er in der Verwandtschaft war. Ich suchte nach solchen Familien, fand etliche, konnte mir jedoch nur von 4 Urin verschaffen.

In einer Familie, bestehend aus 8 Kindern, hatten 5 Krebs. Von den 3 lebenden konnte ich den Urin von nur einem untersuchen. Er war 71 Jahre alt und litt an Dementia senilis. Parasiten gab es im Urin. In einer anderen Familie von 4 Kindern starben 2 an Cancer. Eines der noch lebenden ist 50 Jahre alt und leidet in der letzten Zeit an Petit mal. In seinem Urin fanden sich Parasiten. In einer dritten Familie ist eine Person an Cancer uteri gestorben, die andere hat jetzt Cancer uteri, in ihrem Urin fanden sich Parasiten. Die dritte Schwester ist gesund, in ihrem Urin fanden sie sich auch. Ein weiblicher Patient leidet an Endometritis uteri, auf eine zufällige Frage erzählt er, daß sein Vater vor einigen Tagen an Krebs gestorben ist. Der Urin wurde daher untersucht und es fanden sich Parasiten. Dies waren also 5 Personen, in deren Familie Krebs war und wo sich Blastomyceten im Urin fanden.

Doch nun war da der andere Arzt, bei dem Krebs nicht in der Familie war und sich doch Parasiten im Urin fanden. Dasselbe war bei einer 37-jährigen, verheirateten Frau der Fall, welche an einer parenchymatösen Metritis leidet, bei der sich aber in den letzten 4—5 Jahren eine, besonders nächtliche, Epilepsie entwickelt hatte.

Man kann möglicherweise einwenden, daß dies doch ein geheim gehaltener Krebs gewesen sei. Dies will ich nicht bestreiten, aber es wurde mir Urin von einer anderen Patientin gesandt, die an Cancer ventriculi leiden sollte. Da gab es genug Parasiten in ihrem Urin. Sie starb 14 Tage später, bei der Obduktion konnte jedoch nicht Krebs nachgewiesen werden. Da sie stark rachitisch und im äußersten Grade abgemagert war, wurde als Todesursache Marasmus angeführt.

Ich habe aber erwiesen, daß sich im Uterusmyom auch ein Parasit befindet, welcher dem bei Cancer ähnelt. Dieser könnte möglicherweise auch im Urin nachgewiesen werden. Eine 50-jährige, unverheiratete Frau hat ein Uterusmyom, welches einige Fingerbreiten über den Umbilicus reicht. Sie ist mehrmals in Kreuznach gewesen. Im Urin fanden sich Blastomyceten. Eine 34-jährige, unverheiratete Frau hat ein Uterusmyom, welches bis zum Umbilicus reicht. Im Urin waren Parasiten. Eine 25-jährige Virgo hat ein Myom im Uterus so groß wie eine geballte Faust. In ihrem Urin fanden sich Blastomyceten, einer war sogar so groß wie in Fig. 4.

In Lipomen habe ich auch einen ähnlichen Parasiten gefunden. Eine Patientin hatte ein Lipom an der obersten, inneren Fläche des Schenkels so groß wie ein großer Apfel. Im Urin waren Blastomyceten.

Naevi und andere kongenitale Tumoren, macht ein Verf. aufmerksam, finden sich oft gleichzeitig bei Cancer. Ich bekam eine Patientin, die an einer Cystitis leidet, die mit Unterbrechungen 8—9 Jahre gedauert hat. Ihre Unterlippe ist auffallend. Das Prolabium ist 3mal so breit und dick wie es sein soll, hat eine blaurote Farbe und eine etwas unregelmäßige Oberfläche; es ist keine Pulsation zu fühlen. Die Geschwulst muß wohl ein Angiom genannt werden. Dadurch angetrieben, untersuchte ich den Urin nach Blastomyceten und die fanden sich auch unter den Bakterien.

Zu meiner Ueberraschung wurde ihre Cystitis stets besser und nach Verlauf eines Monates war sie so wohl, daß sie sich nicht länger behandeln lassen wollte. Ihr Urin enthielt immer noch Bakterien und Blastomyceten. Ich bat sie deshalb, nach einem Monat wieder zu kommen. Sie kam, hatte keine subjektiven Klagen. Ihr Urin war vollständig klar, selbst nachdem derselbe einen Tag gestanden hatte. Ich machte Trockenpräparate aus dem im untersten Teile des Uringlases befindlichen Urin. Blastomyceten waren da. Bei der Cytoskopie ergab sich nichts Abnormes. Daß dies nicht Cancer vesicae war, der kuriert wurde, scheint nach unserer jetzigen Auffassung von Cancer nicht annehmbar. Aber woher kamen die Blastomyceten?

Als einen Gegensatz will ich folgenden Fall erwähnen, bei dem ich merkwürdigerweise am selben Tag konsultiert wurde. Patientin war 30 Jahre alt, hat längere Zeit an Cystitis gelitten und wurde im Krankenhaus durch lange Zeit ohne Nutzen behandelt. Der Urin ist sauer, schleimig, blutig, enthält einzelne nekrotische Gewebsstücke, Bakterien und eine ganze Menge Blastomyceten. Das Cytoskop zeigte einen kleinen, papillenförmigen Tumor. Dies war doch wohl Cancer vesicae und das Vorhandensein der Blastomyceten leicht verständlich; aber man sieht, wie vorsichtig man darin sein muß, dieselben als diagnostisches Merkmal zu gebrauchen und dies um so mehr, als sich auch bei Syphilis Parasiten im Urin finden können, die denen bei Krebs ähnlich sind.

Wie bekannt, haben Kremer und Schöller einen Parasiten bei Syphilis nachgewiesen, den beide mit jenem, der sich bei Cancer und Sarkom findet, zusammenstellen. In einem indurierten Cancer, welcher aus lebendigem Leibe geschnitten worden war, habe ich auch einen Parasiten gesehen, der jedoch sehr schwierig aus den unzähligen kleinen Zellen, die den Hauptbestandteil des indurierten Gewebes bildeten, herauszunehmen war. In einem anderen Falle war es dagegen sehr leicht, ihn zu finden. Eine Frau, die von mir früher wegen sekundärer syphilitischer Symptome über der Vulva behandelt worden war, kommt mit einer Leukoplasie am rechten Zungenrand und einer an der inneren Fläche der Oberlippe. Ich schabte die weiße Masse mit einem Messer ab, machte ein Trockenpräparat auf gewöhnliche Weise und färbte dieses mit der Lugolschen Flüssigkeit.

Es fanden sich mehrere schwarze oder braunschwarze Figuren, welche vollständig denen, die ich gezeichnet habe, glichen, eine einzelne war sogar so groß wie No. 5, die übrigen waren kleiner, es fanden sich verhältnismäßig wenig Zerfallsprodukte. Ich untersuchte nun ihren Urin und fand dieselben Parasiten. Dadurch angeleitet, untersuchte ich ihr Blut von den Fingerspitzen, fertigte ein Trockenpräparat, färbte es mit Lugolscher Flüssigkeit und fand einen deutlichen Parasiten so groß wie in Fig. 10 und eine Anzahl kleinere, die jedoch nicht so gleichmäßig schwarz gefärbt waren. Bei 8 anderen Syphiliskranken habe ich bloß den Urin untersucht und fand die gewöhnlichen runden, schwarzen Formen, bei einem 6-jährigen Mädchen, das nach der Geburt angesteckt worden war, fand ich auch Formen, die den Figuren 41—43 glichen, also wohl Schöllers Kapseln waren.

Das Resultat dieser 60 Urinuntersuchungen ist, daß sich die Blastomyceten im Urin finden und mit Leichtigkeit nachgewiesen werden können. Da aber durch diese Untersuchung allein die verschiedenen Blastomyceten nicht voneinander unterschieden werden können, können diese nicht als diagnostisches Merkmal für eine bestimmte Krankheit dienen, möglicherweise aber als Grundlage für die Behandlung. Bei einem Syphiliskranken würde ich nicht mit der spezifischen Behandlung abbrechen, bevor die Parasiten aus dem Urin verschwunden sind. Dies scheint ziemlich rationell, finde ich aber Blastomyceten im Urin bei einem, der einer cancerösen Familie angehört, würde ich wohl versucht werden, dieselben zu eliminieren. Hätte man eine für Krebsparasiten spezifische Immunisierung, wäre kein Grund dazu vorhanden, dieselbe nicht zu versuchen. Bis diese gefunden ist, werde ich mit Hinsicht auf die Analogie zwischen Cancer und Syphilis mich nicht bedenken, Jod zu gebrauchen, um so mehr, als dasselbe eine spezifische Farbenwirkung gegenüber den Blastomyceten im ganzen genommen hat und nichts Faktisches dafür vorliegt, daß dasselbe die immunisierenden Stoffe des Blutes zerstört. Wir sehen, daß unter seiner Anwendung die Syphilome schwinden. Die sogenannten gutartigen Tumoren können oft in Cancer übergehen und hier herrscht wohl nur ein Grad Unterschied in der Stärke der Infektion. Wenn ich einen Cancer operiert hätte, würde ich Furcht vor Rezidiven haben, bis mir die Urinuntersuchungen gezeigt hätten, daß die Blastomyceten verschwunden seien. In dem von einem Kollegen operierten Fall kam das Rezidiv nach Verlauf von 10 Jahren.

Bei dem Patienten, der an Cancer vesicae litt und wo sich Blastomyceten im Urin fanden, untersuchte ich das Blut aus den Ohrläppchen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

indem ich ein Trockenpräparat anfertigte und es mit dem Lugolschen Präparat färbte. Ich fand 50 Blastomyceten. Von diesen waren 18 so groß wie die Figuren 7—10, 30 gehörten zu den kleinen Formen, es fanden sich 2 gelbbraune mit dicker Kapsel. Finden sich aber Blastomyceten im Blute, so können dieselben möglicherweise auch in den Sekreten vorhanden sein. Ich untersuchte Sputum; hier waren sie und einige waren so groß wie Figur 5. Ich untersuchte den Nasenschleim, auch hier fanden sich solche. Ich konnte etwas Flüssigkeit aus der linken Mamma drücken, Blastomyceten waren vorhanden. Endlich nahm ich etwas Sekret vom Collum uteri, auch hier gab es Blastomyceten. Inmitten des großen Präparates lag gleichsam eine kleine Kolonie von großen und kleinen mit einer Anzahl fein gezeichneter und klarer Kapseln wie in Figur 49 und 50.

Summa summarum, ein weiblicher Patient mit einem sehr kleinen cancerösen Tumor in der Blase kann Blastomyceten im Urin, im Blute, im Sputum, im Nasenschleim, in der Brustmilch, im Uterussekret aufweisen. Ist es der kleine Tumor, der den ganzen Organismus infiziert hat oder ist dieser selbst nur eine sekundäre lokale Infektion? Das letztere scheint mir am wahrscheinlichsten.

Nachdruck verboten.

Ist die Wut vererbbar?

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Josef-Universität in Kolozsvár. Direktor: Dr. J. von Lőte, o. ö. Professor.]

Von Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten.

Die Frage der erblichen Uebertragung von Infektionskrankheiten beschäftigt seit alters her die Aerzte. Vor der Entdeckung der pathogenen Mikroorganismen war man bei der Lösung dieser Frage, aus Mangel einer geeigneteren Methode, auf statistische Daten angewiesen. Heutzutage kann man mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchungsmethoden experimentelle Tatsachen benützen zur Beleuchtung dieser wichtigen Frage. Aber — wie dies Wassermann mit Recht sagt — bedarf gerade dieses Gebiet, d. h. der sichere Nachweis, daß die bei den Deszendenten gefundenen Infektionserreger in der Tat von den Aszendenten vor der Geburt übertragen sind, ganz besonders vorsichtiger, geübter Untersuchung und Beurteilung.

Eine sichere placentare Uebertragung von Mutter auf Kind wurde schon beobachtet bei Infektionen mit Milzbrand, Pneumonie, Typhus, pyogenen Kokken, Febris recurrens, Variola, Malleus, Syphilis, Tuberkulose[1]).

Was die kongenitale Tuberkulose anbelangt, so sind 12 Fälle bei Wassermann verzeichnet, bei welchen bisher der intrauterine Uebergang von Tuberkelbacillen sicher nachgewiesen wurde.

Neuestens hat Veszprémi über einen Fall berichtet, bei welchem die Zeit der tuberkulösen Infektion in das intrauterine Leben zurück-

---

[1]) Diesbezügliche vollständige Literatur bei Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. p. 395.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

geführt werden mußte, und in welchem die tuberkulösen Veränderungen in Anbetracht des anatomischen und histologischen Bildes keinem Zweifel unterliegen.

Auch wir konnten während unseren Untersuchungen in all denjenigen Fällen, wo bei der Sektion Föten gefunden wurden, in der Leber und Milz derselben sowohl kulturell als histologisch dieselben Mikroben nachweisen, welche den Tod des Muttertieres verursachten. Wir beobachteten 5 solche Fälle von Milzbrandinfektion bei Schafen, noch mehrere bei Kaninchen, außerdem einige mit pyogenen Kokken ebenfalls bei Kaninchen.

Aus den angeführten sicheren Fällen ist zu ersehen, daß die Möglichkeit der placentaren Uebertragung sowohl akuter als chronischer Infektionskrankheiten vorliegt, obzwar dies keine praktische Bedeutung hat.

Anders steht es aber mit der placentaren Uebertragung der Wutkrankheit, worüber in der Literatur spärliche und sehr widersprechende Angaben gefunden werden.

Die ersten Untersuchungen wurden im Laboratorium Pasteurs gemacht im Jahre 1883, und zwar wie folgt: Am 1. Juni 1883 wurde eine trächtige Hündin subdural geimpft, welche nach 13 Tagen an Wut erkrankte. Am 2. Tage der Krankheit warf sie 5 Junge, wovon 2 den nächsten Tag zu Grunde gingen. Aus ihrem Mark wurden 4 Kaninchen subdural geimpft, welche nach 161 Tagen noch lebten.

Am 5. August 1883 wurde ein Kaninchenweibchen infiziert, welches 6 Tage vor dem Erscheinen der Wutsymptome 4 Junge warf; sie blieben am Leben.

Am 11. Dezember 1883 wurden 6 Kaninchen infiziert mit dem Mark eines Kaninchenfötus, welches in dem Augenblicke geboren wurde, als die Wut beim Muttertier erschien. Diese blieben auch am Leben. (Schade, daß die Dauer der Beobachtung nicht angegeben ist.)

Im Jahre 1887 beschäftigten sich Perroncito und Carita mit solchen Experimentaluntersuchungen. Diese Forscher infizierten 2 Meerschweinchen mit dem Mark von 2 Kaninchenföten, die am 2. Tage der Wutkrankheit tot geboren wurden. Von diesen ging das eine nach 9 Tagen an Wut zu Grunde, das andere blieb am Leben.

Im Jahre 1888 hat Zagari an 12 trächtigen Tieren: an 5 Kaninchen, 6 Meerschweinchen und einer Hündin solche Experimente gemacht. Die Einimpfung wurde bei einigen auf dem Wege der peripheren Nerven, bei anderen durch Inokulation in die Schädelhöhle gemacht. Die Versuche wurden an 32 Föten vorgenommen. Die Föten wurden teils durch künstlichen Abortus ausgetrieben, teils aus dem Uterus des Tieres post mortem genommen. Die Inokulation geschah immer in die Schädelhöhle. Alle diese Experimente hatten beständig negative Resultate.

Zur selben Schlußfolgerung gelangen im selben Jahre Celli und de Blasi.

De Blasi und Russo Travali vermochten mit Sperma Tiere zu infizieren.

Im Jahre 1892 zieht Bombicci aus seinen Untersuchungen den Schluß, daß das verlängerte Mark der Kaninchenföten, die von wutkranken Müttern stammten, nicht infektiös ist.

Lisi berichtet im Jahre 1893 über 3 Fälle von kongenitaler Wut beim Hunde.

Högyes sagt auf p. 61 seiner umfangreichen Monographie folgendes über diesen Gegenstand: „Es wurde schon öfters die Frage einer experimentellen Untersuchung unterworfen, ob der Infektionsstoff der Wut von der wutkranken Mutter durch die Placenta auf die Frucht übertragen wird. Die meisten Forscher — unter ihnen auch wir — kamen zu dem Resultate, daß man bei Kaninchen trotz der subduralen Methode weder mit dem Gehirne, oder anderen Körperteilen der Frucht wutkranker Mütter, noch mit der Amniosflüssigkeit derselben die Wut erzeugen kann. . . . Die von Lafosse und Canillac beschriebenen und andere Fälle, wo die während der ausgebrochenen Wut von Kühen geworfenen Kälber später wutkrank wurden, müssen auf zufällige Infektion nach der Geburt zurückgeführt werden“.

Im Jahre 1898 fand Galtier in den Föten von 7 Hündinnen, 8 Schafen, 3 Ziegen und mehr als 50 Kaninchen und Meerschweinchen kein einziges Mal den Infektionsstoff.

Im selben Jahre impfte Abba von 7 Föten eines an Wut leidenden Kaninchens und aus ihrer Placenta je 4 Kaninchen subdural. Alle lebten noch nach einer Beobachtungsdauer von 4 Monaten.

In diesem Jahre hatte auch v. Rátz Gelegenheit, einen solchen Fall zu beobachten. Bei der Sektion einer an Wut zu Grunde gegangenen Kuh wurde ein ausgebildetes Kalb gefunden. Am 22. Oktober 1898 wurden sowohl aus der Kuh als auch dem Kalbe je 2 Kaninchen infiziert. Die aus der Kuh geimpften zeigen am 10. November die typischen Symptome der Wut und gehen am nächsten Tage daran zu Grunde. Die aus dem Kalb infizierten blieben am Leben. (Beobachtungsdauer nicht angegeben.)

Im Jahre 1900 schreibt Babes in seinem Säkulärartikel folgendes über diese Frage: „Die Angaben über die Uebertragung der Wut von der Mutter auf den Fötus werden auf Grund von zahlreichen Erfahrungen zurückgewiesen“.

Krokiewicz berichtet im Jahre 1902 über einen Fall bei einer 20-jährigen schwangeren Tagelöhnerin, welche 10 Wochen nach dem Bisse eines tollen Hundes an Wut erkrankte und binnen 5 Tagen daran zu Grunde ging. Es wurde mit dem mütterlichen und fötalen Mark je ein Kaninchen geimpft. Das mit dem mütterlichen geimpfte ging am 20. Tage an typischer Wut ein, daß andere blieb am Leben. Nach 4 Wochen wurde es erdrosselt. Der Sektionsbefund ergab ein vollständig negatives Resultat. (Schade, daß dieses Tier nicht länger beobachtet wurde.)

Der neueste Fall ist derjenige von Loir aus dem Jahre 1903. In diesem Falle warf das am 3. Tage der ausgebrochenen Krankheit sich befindende Kaninchen ein lebendiges Junges, das 4 Stunden später zu Grunde ging. Von den 2 aus diesem subdural geimpften Kaninchen ging das eine nach 7, das andere nach 9 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein. (Un nouveau fait positif constatant le passage du virus rabique de la mère au foetus.)

Die angeführten widersprechenden Ergebnisse gaben mir den Impuls, experimentelle Untersuchungen anzuordnen und diese Frage etwas näher zu betrachten. Meine Untersuchungen beginnen im April 1903.

Als Infektionsstoff diente das Virus einer 34. Kaninchen-Passage. Mit diesem wurden 2 trächtige Meerschweinchen unter die harte Hirnhaut infiziert. Das eine warf den nächsten Tag 2 Junge, welche nicht benützt werden konnten. Das andere Meerschweinchen erkrankte am 6. Tage an Wut und ging nach $1^1/_2$-tägiger Krankheitsdauer daran zu

Grunde. Im Momente des Todes wurden 4 ganz entwickelte Junge herausgenommen.

Jetzt wurde ihr verlängertes Mark mit der größten Sorgfalt herausgeschnitten, mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion bereitet, sodann unter die harte Hirnhaut von 8 Meerschweinchen und 2 Kaninchen gespritzt. Es wurden selbstverständlich auch aus dem Muttertier Meerschweinchen und Kaninchen infiziert und zwar je 2. Bemerken muß ich, daß mit separaten Instrumenten gearbeitet wurde, ja sogar die Impfung mit dem mütterlichen Mark mein Kollege Béla v. Élthes durchführte, um auch die Möglichkeit eines Hinzukommens des mütterlichen Markes zu verhindern. Die Tiere lebten von einander getrennt; von einer fremden Infektion kann absolut keine Rede sein.

Die Meerschweinchen, welche mit dem mütterlichen Mark infiziert wurden, gingen nach 6—7-tägiger Inkubation und nach einer Krankheitsdauer von 1—1$^1/_2$ Tagen, die Kaninchen nach 7-tägiger Inkubation und 5-tägiger Krankheit an typischer Wut ein.

Am 91. Tage nach der Infektion erkrankten 2 mit dem fötalen Mark geimpfte Meerschweinchen, am 92. Tage ein drittes, am 96. das vierte und am 98. die übrigen vier. Das Stadium morbi dauerte 1$^1/_2$—9$^1/_2$ Tage.

Von den zwei mit dem fötalen Mark infizierten Kaninchen erkrankte das eine nach 105, das andere nach 475 Tagen.

Aus den Meerschweinchen, welche mit dem fötalen Mark infiziert wurden und an Wut zu Grunde gingen, wurde in Meerschweinchen und Kaninchen weiter geimpft, um erstens die Wutdiagnose sicher bestimmen zu können, zweitens um zu sehen, ob das Lyssavirus keine Veränderung erlitten hat.

Die weiter geimpften Meerschweinchen gingen nach 20-, 21-, 25-, 26-, 28- und 34-tägiger Inkubation und 2-, 8-, 11-, 16-tägiger Krankheitsdauer zu Grunde, die Kaninchen blieben außer einem, welches nach 61 Tagen an Wut einging, am Leben.

In der 1. Untersuchungsreihe wurde Passagevirus benutzt, es schien aber interessant, die Wirkung des Straßenvirus unter denselben Bedingungen zu untersuchen.

Aus diesem Grunde wurde mit dem Mark eines an Straßenwut eingegangenen Hundes ein trächtiges Kaninchen unter die harte Hirnhaut infiziert. Dieses Tier ging am 13. Tage unter den typischen Erscheinungen der Wut ein. Aus einem der herausgenommenen 4 Föten wurden 2 Meerschweinchen und ein Kaninchen subdural geimpft. Die aus dem Muttertiere infizierten bekamen die Wut nach 12 Tagen, die Meerschweinchen, welche mit dem fötalen Mark geimpft wurden, erkrankten nach 15-tägiger Inkubation und gingen nach einer Krankheitsdauer von 24 Stunden an typischer Wut ein. Das aus demselben Fötus infizierte Kaninchen hat am 12. Tage Fieber, welches 5 Tage lang dauert, dann wird es wutkrank, geht aber daran nicht zu Grunde, sondern es wird ihm besser; nach 229 Tagen wird das Tier wieder krank und geht nach 26 Tagen an Wut ein.

Aus den Meerschweinchen, welche mit dem fötalen Mark infiziert wurden und zu Grunde gingen, wurde auch jetzt weiter geimpft. Das Meerschweinchen erkrankte in der II. Generation erst nach 27 Tagen und ging nach 2-tägiger Krankheit ein, beim Kaninchen erschienen die ersten Symptome der Wut erst nach 210 Tagen, das Stadium morbi dauerte in diesem Falle 2 Tage lang. In den weiteren Generationen war die Inkubation beim Meerschweinchen 32, das Stadium morbi 5 bis 7 Tage lang und die Kaninchen blieben am Leben.

Lassen wir die Fälle von Lisi und de Blasi und Russo Travali außer acht, so bleiben nur zwei Fälle in der Literatur, in denen es experimentell gelungen ist, mit dem Mark der Föten Lyssa zu erzeugen: Perroncito und Carita bei Meerschweinchen und Loir bei Kaninchen. Meine Untersuchungen beweisen, daß das verlängerte Mark der Föten das Lyssavirus enthält, weil die geimpften Tiere alle an Wut erkrankten, aber viel später als die aus dem Muttertier infizierten. Die Ursache dieser Verspätung kann entweder diejenige sein, daß das Mark der Föten eine geringere Quantität des Virus enthält, oder aber wird das Virus abgeschwächt. Man könnte auf die letztere Möglichkeit denken aus dem Umstande, daß in den folgenden Passageimpfungen die Meerschweinchen später und später erkranken, das Stadium morbi auch immer länger wird und die Kaninchen am Leben bleiben.

Von Wichtigkeit ist die Frage: Auf welchem Wege verbreitet sich das Lyssavirus von der Mutter auf den Fötus? Nach der Meinung der meisten Forscher kann dies durch das Placentablut, da dasselbe das Virus nicht enthält, nicht geschehen. Es soll in dieser Beziehung nur auf zwei in der neuesten Zeit erschienene Monographieen hingewiesen werden. Casper sagt diesbezüglich folgendes: „Da das Blut der an Tollwut leidenden Tiere zu keiner Zeit der Erkrankung Virus enthält, so war die Vererbungsmöglichkeit von vornherein nicht wahrscheinlich. Die Möglichkeit der intrauterinen Uebertragung, der Vererbung der Wutkrankheit ist so gut als ausgeschlossen zu betrachten.“

Bei E. Marx finden wir über diese Frage folgendes: „... daß wohl infolge des Fehlens des Infektionsstoffes im Blut auch bei menschlichen und tierischen Föten das Virus meist nicht nachweisbar ist.“

Was die Wege anbelangt, auf denen das Lyssavirus sich verbreitet, so waren noch vor Pasteur zwei Ansichten bekannt. Krügelstein behauptete schon im Jahre 1826, Duboué im Jahre 1879, daß das Wutgift direkt auf die Nervenenden wirkt und auf diesem Wege sich fortpflanzt. Im Jahre 1837 war Lenhossék, 1855 Virchow, später Bollinger der Meinung, daß das Virus durch die Gewebssäfte in den Lymph- und Blutstrom gelangt und auf diese Weise weiter geführt wird.

Pasteur acceptierte die Ansicht Dobouës nicht unter dem Hinweise, daß auch Injektionen in die Gefäße Wut erzeuge.

Möller injizierte mit positivem Erfolge einem Hunde in die Vena jugularis mit Blut gemischten Speichel eines wutkranken Hundes.

Pasteur, Chamberland, Roux und Thuillier hatten mitgeteilt, daß die intravenöse Injektion sehr oft die stille, paralytische Form der Wut erzeugt.

Bordoni-Uffreduzzi erwähnt, daß er in vielen Fällen auf dem Wege des Experiments konstatieren konnte, daß auch das Blut von Tieren, die infolge der Infizierung an Wutkrankheit starben, wirklich virulent ist.

Nach de Blasi und Russo Travali spielt bei dem Transport auch der Lymphstrom eine Rolle.

Nach E. Marx gelingt eine Infektion von der Blutbahn bei Hunden und Kaninchen leicht, und meint, daß eine solche Verbreitung wohl dann sicher eintritt, wenn es sich um künstliche Infektionen handelt. Nach Högyes ist die Verbreitung durch die Nerven nicht die einzige Art, auf welcher das Virus in das Zentrum gelangt, da die Wut auch mittels intravenöser Injektion erzeugt werden kann; was aber bei künstlichen Infektionen vorkommt, muß auch bei natürlichen Infektionen möglich sein.

Auf diese Weise könnte man den Uebergang des Virus von der Mutter auf den Fötus durch das Placentablut sich vorstellen, und ich glaube, daß dies öfters gelungen wäre, wenn die Forscher nicht nur Kaninchen, sondern auch Meerschweinchen zu ihren Experimenten gebraucht hätten und die Beobachtungsdauer eine längere gewesen wäre.

Konklusion.

1) Das Wutvirus geht von der Mutter auf den Fötus über, scheint aber inzwischen abgeschwächt zu werden.

2) Zu solchen Untersuchungen sollte man nicht nur Kaninchen, sondern auch Meerschweinchen benutzen, da diese für die Wut empfänglicher sind.

3) Die Beobachtungsdauer muß auf ungefähr $1^1/_2$ Jahr verlängert werden.

Kolozsvár, am 25. November 1904.

Literatur.

Abba, Contribution à la question du passage du virus rabique de la mère au foetus. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898.)

Babes, Die Lehre von der Hundswut zu Ende des 19. Jahrhunderts. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 42—43.)

Bollinger, Wutkrankheit. (Ziemssens Handbuch. Bd. III.)

Bombicci, Sopra la transmissione della rabbia dalla madre al feto. (Gaz. degli osp. Milano. Vol. XIII. 1892.)

Bordoni-Uffreduzzi, Autorreferat. (Centralbl. f. Bakt. Bd. III. 1888.)

De Blasi u. **Russo Travali**, Richerche sulla rabbia. (La riforma medica. 1889 —1890.)

Casper, Pathologie der Tollwut. (Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse der allg. Pathol. VII. Jahrg. 1900/1901. Erschienen 1902.)

Celli u. **de Blasi**, Stazione municipale vaccinazione antirabiche. (Boll. de soc. d'igiene di Palermo. Vol. III. 1888.)

Duboué, De la physiologie pathologique et du traitement de la rage. (Paris 1879.)

Galtier, Note sur la rage. (Bullet. de la soc. centr. de méd. vét. 1898.)

Högyes, Lyssa. (Nothnagel: Spez. Pathol. und Therapie. Bd. V.)

Krokiewicz, Beitrag zur Lehre von der Lyssa humana. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 6.)

Krügelstein, Geschichte der Hundswut. 1826.

Lisi, Tre casi di rabbia congenita nel cane. (Clin. veter. Vol. XVI. 1893.)

Loir, La rage dans l'Afrique du Sud. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903.)

Lenhossék, Die Wutkrankheit nach bisherigen Beobachtungen. (Pest 1837.)

Marx, E., Lyssaimmunität. (Handb. d. path. Mikroorganismen. Bd. IV. 1904.)

Möller, Uebertragung der Wutkrankheit durch Injektion von Speichel in die Blutbahn. (Arch. f. Tierheilk. Bd. VII. 1881.)

Pasteur, Note sur la rage. (Compt. rend. T. XCII. 1881.)

Pasteur, **Chamberland**, **Roux**, **Thuillier**, Nouveaux faits pour servir à la connaissanse de la rage. (Compt. rend. T. XCV. 1885.)

Perroncito u. **Carita**, De la transmission de la rage de la mère au foetus. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. I. 1887.)

v. **Rátz**, A veszettség virusának átöröklésérŏl. (Veterinarius. Jahrg. 1899.)
— Sur le passage du virus rabique de la mère au foetus. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. I. 1887.)
Veszprémi, Ein Fall von kongenitaler Tuberkulose. (Ziegler-Schmidt, Centralbl. f. allg. Patholog. u. pathol. Anatomie. Bd. XV. 1904.)
Virchow, Zoonosen. (1855.)
Wassermann, Erbliche Uebertragung von Infektionskrankheiten. (Handb. d. path. Mikroorganismen. Bd. I. 1903.)
Zagari, Esperienze interno alla transmissione della rabbia dalla madre al feto. (Giorn. internaz. de scienc. med. Napoli. Vol. X. 1888. Ref. Annal. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1888.)

Nachdruck verboten.

Observations on some protozoa found in human faeces.

By Prof. **Aldo Castellani**, Director Bacteriol. Institute, Colombo (Ceylon).

With 5 figures.

Nyctotherus africanus n. sp.

This parasite was observed by me in the faeces of a Baganda native affected with sleeping sickness. The general form of the parasite resembles in a certain way that of a sand-watch with the upper portion much less developed than the lower. The shape was practically alike in all the organisms, though the dimensions might vary a little. The average length of the parasite is from 40 to 50 micron while the maximum diameter in breadth is from 35 to 40. The endoplasm is finely granular and is of the same character throughout. The surface of the parasite is covered with very minute, in some cases almost invisible cilia, which become much longer and thicker on the posterior zone of the body, where a short peristome is present. The disposition of cilia is somewhat similar to what one sees in *Bütschlia parva*. A rather large contractile vacuole is situated not far from the nucleus. It is to be noted that in several individuals the contractile vacuole could not

Fig. 1.

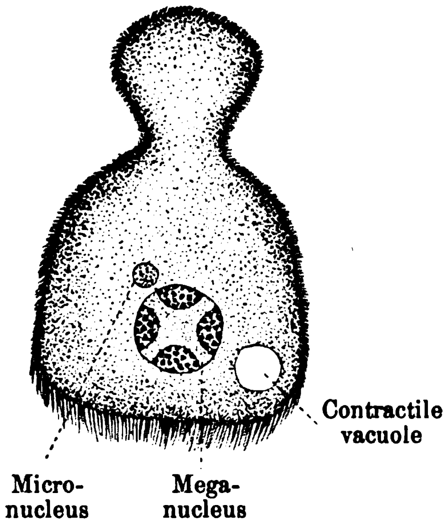
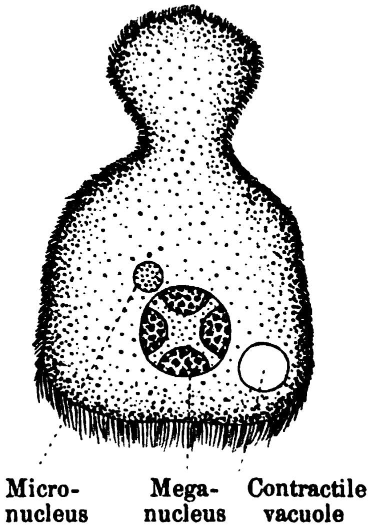


Fig. 2.



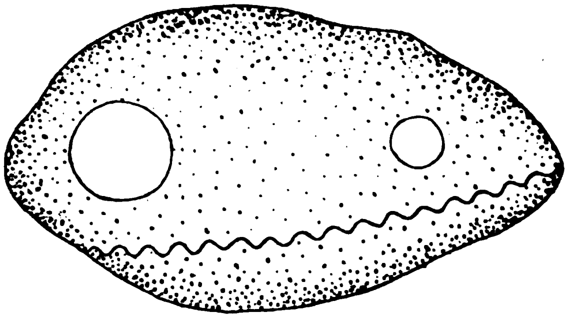
be detected. Food vacuoles were never present. The most interesting feature of the parasite is given by the morphological characters of the nucleus. The meganucleus is rounded in shape and very large. It shows a remarkable structure identical to the structure Schaudinn described in *Nyctotherus faba* viz: the chromatin is collected in four large masses at the periphery. This structure is well shown by the annexed illustration. The micro-nucleus is very small and is situated close to the macronucleus. I did not see any forms showing signs of division or conjugation. Encysted forms were not observed.

Has this parasite any pathogenic properties? The patient who harboured it presented intestinal troubles, diarrhoea, alternating with long periods of constipation. The patient however was affected with sleeping sickness in which disease intestinal troubles are not a rare feature. I must add also that the patient harboured in his intestine various worms: *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalus dispar* and *Ankylostoma duodenale*. The ova of all these worms and especially of *Ankylostoma duodenale* were very numerous in the stools. Therefore it is impossible to say wether the parasite had any part or not in the causation of the intestinal symptoms. The patient died of sleeping sickness in a few months. The mucosa of coecum, colon and rectum was slightly congested. No ulcerations were present. The histological examination of the mucosa was not taken. The intestinal contents, especially those of the coecum. contained many specimens of the parasite. No other protozoa were present.

Entamoeba undulans n. sp.

I have observed the parasite which I am going to describe in a case of chronic dysentery here in Colombo. The patient was a European planter and had been several years in the island. The patient suffered from the first attack of the disease some years ago. After that an abscess of the liver developed which was successfully operated on. A few months ago another attack of dysentery set in, again an abscess of the liver developed and was operated. The patient died two days after the operation. The stools of the patient contained some faecal matter, mucus, pus and blood. The bacteriological investigation for Kruse's bacillus was negative. Serum reaction with the Bacillus dysentericus was always negative either using an original strain from Germany or any strain isolated by me in Ceylon in cases of bacterial dysentery. — The microscopical examination of the faeces showed some amoebae with the characters of the *Entamoeba histolytica* Schaudinn, some trichomonata and several individuals of another form of protozoon. This last parasite is of larger dimensions than the *Trichomonas intestinalis*, its maximum diameter reaching from 25 to 30 micron. The usual shape is oval or roundish. There is absolute absence of flagella. The organism presents a continuous rapid undulating movement from one extremity to the other extremity of its body, this being due to the presence of an undulating membrane. Now and then at the interval of 15 to 20 seconds a very narrow long pseudopodon is shot from the body. Only one pseudopodon is emitted at a time. The pseudopodon is emitted very quickly and is very quickly retired. The pseudopodon is emitted sometimes from a part of the body and sometimes from another part. The organism has a finely granulated protoplasm, a differentation between ectoplasm and endoplasm apparently does not exist, the protoplasm is practically of the same character throughout. In a few individuals a very indistinct nucleus could be observed, but in the most of the specimens no nucleus at all can be seen. One small vacuole is often present, seldom more than one. The vacuole does not possess the characters of a contractile vacuole. The position of the vacuole varies. The protoplasm may contain some bacteria and granules. In preparations stained with various methods the nucleus could not be stained satisfactorily. Encysted forms or forms in division were not observed.

Fig. 3.



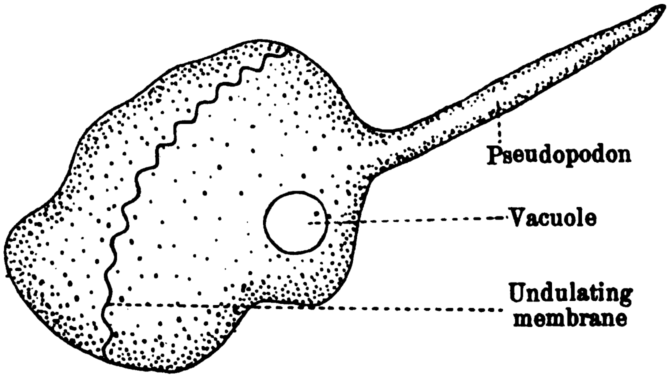
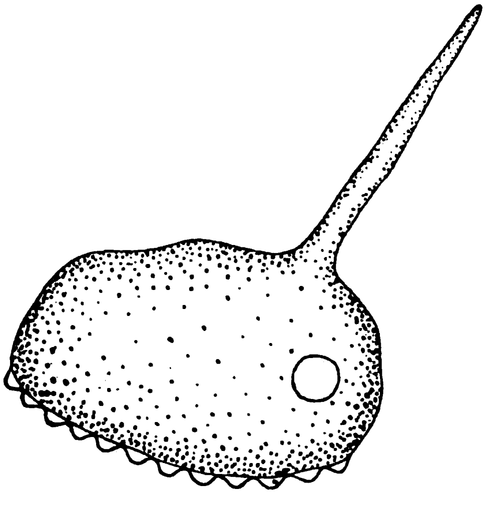


Fig. 4.

Fig. 5.



The parasite in my opinion, can not be considered a *Cercomonas* or a *Trichomonas* as there was always complete absence of flagella. That the organisms should be trichomonata which somehow had lost their flagella while retaining their undulating membrane is very improbable. Besides their dimensions were much larger than the dimensions of intestinal trichomonata. It is also to be noted that though trichomonata may sometimes present amoeboid movements their pseudopoda, in my experience at least, are not of such a shape and never of such a length. The parasite was not either one of the ordinary intestinal amoebae as it possessed an undulating membrane and the shape and mode of emission of the pseudopoda were different to what one sees in the *Amoeba coli*, in which the pseudopoda are of large dimensions, blunt and are emitted rather slowly. In my patient *Amoeba coli* (var. *Entamoeba*

histolytica Schaudinn), *Trichomonas intestinalis* and the parasite I have described were present together; therefore the comparison between all of them was easy. — The organism might be called *Entamoeba undulans.*

References.

Doflein, Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.
Clarke, J. Jacson, Protozoa and disease. London 1903.
Schaudinn, Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 491.

Nachdruck verboten.

Ueber den Mechanismus der Abwehr des Organismus bei Infektion mit Tuberkelbacillen.

[Aus dem staatlichen Laboratorium für Schiffs- und Tropenhygiene im Seelazarett S. Bartolomeo bei Triest.]

Von Seesanitätsinspektor Dr. **Markl.**

Mit 1 Tafel.

In der Aetiologie der Tuberkulose spielte seit undenklicher Zeit der unklare Begriff „Disposition“ die Hauptrolle. Unter diesen Begriff hat man die Heredität, die ungünstigen sozialen, klimatischen und hygienischen Verhältnisse und überhaupt alles subsummiert, was geeignet erscheint, den Organismus zu schwächen und zu schädigen und der Infektion zugänglicher zu machen.

Wenn man den Begriff „Disposition“ nach heutigem Stande der Wissenschaft analysiert, so kann man ihn mit dem Begriffe einer relativen Immunität identifizieren.

In der Tat galt die menschliche Tuberkulose bis vor kurzem für eine wenig infektiöse Krankheit, zu deren Erzeugung wiederholt und in größerer Menge Tuberkelbacillen aufgenommen werden müssen.

Nach der Lehre von Behring, welcher die Infektion mit Tuberkelbacillen in das früheste Kindesalter versetzt wissen will, dürfte die relative Immunität an Bedeutung verlieren; ganz zurückweisen will sie aber selbst v. Behring nicht.

Nun, wenn eine relative Immunität des Organismus gegen die Tuberkuloseinfektion vorhanden ist, liegt die Frage nahe, worin dieselbe besteht, bezw. auf welche Art und Weise die in den Körper eingedrungenen Tuberkelbacillen unschädlich gemacht werden.

In der Literatur existieren mehrere Arbeiten, welche sich mit dem Schicksale der in den Körper eingedrungenen Tuberkelbacillen beschäftigen.

Metschnikoff[1]) studierte im Jahre 1888 die phagocytäre Rolle der Riesenzellen an Spermophile und zeigte, daß die Tuberkelbacillen im Innern der Zellen degenerieren (rosarot, farblos oder sogar kontrastgefärbt erscheinen).

Bei der Injektion unter die Haut, in die vordere Augenkammer oder ins Blut konnte er beobachten, daß die Tuberkelbacillen sofort von den Leukocyten aufgenommen wurden. Später erschienen die großen Mononukleären, welche die Bacillen und selbst die Polynukleären mit ihren Bacillen aufnahmen.

---

[1] Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzelle. (Virchows Archiv. Bd. CXIII.)

Borrel[1]) studierte die Phagocytose in der Lunge und Niere von Kaninchen und gelangte zu demselben Ergebnisse. Zuerst erschienen die Polynukleären mit Bacillen gefüllt. Am 3. Tage begannen sie zu degenerieren; ihr Kern fragmentierte sich in chromatische Tröpfchen und wurde trübe. Am 5. Tage verschwanden die Polynukleären und ihre Rolle wurde von den großen Mononukleären übernommen, die bereits am Ende des 2. Tages in Aktion traten.

Zu abweichenden Resultaten gelangten Kostenitch und Wolkow[2]), welche keine Phagocytose beobachtet haben.

Broden[3]) fand, daß in den ersten Tagen nach der Infektion die Tuberkelbacillen vorwiegend von Leukocyten und nur teilweise von fixen Elementen aufgenommen wurden. Im späteren Verlaufe verschwanden die tuberkelbacillenhaltigen Leukocyten und man fand die Tuberkelbacillen nur in fixen Elementen. Diese vermehrten sich dann und bildeten die Tuberkel.

Dembinski[4]) experimentierte mit der Vogel- und Menschentuberkulose an Tauben. Zur Anwendung kamen im ersten Falle Bouillon-, im zweiten Falle Glycerin-Kartoffelkulturen (3 Wochen alt). Die Tauben wurden in die Sternalgegend geimpft, und von Zeit zu Zeit wurden Exsudattröpfchen entnommen und untersucht. Bei der Infektion mit Vogeltuberkulose zeigten sich nun folgende Verhältnisse:

$^1/_2$	Std.	nach	der	Infektion	freie TB. im Exsudat; Leukocytose (Polynukleäre) aber keine Phagocytose;
2	„	„	„	„	schwache Phagocytose;
5	„	„	„	„	dto. Leukocytose nimmt zu;
24	„	„	„	„	stärkere Phagocytose;
48	„	„	„	„	mononukleäre Leukocyten vermehrt und fangen an, die TB. aufzunehmen;
4	Tage	„	„	„	Abnahme und Degeneration der polynukleären, ausgesprochene Phagocytose der mononukleären Leukocyten;
5	„	„	„	„	fast nur Mononukleäre mit Bacillen im Plasma oder auch im Kern; die extracellulär liegenden Bacillen nehmen immer mehr und mehr ab, verschwinden jedoch nie vollständig

Es trat also bei subkutaner Infektion der Tauben mit Vogeltuberkulose Phagocytose in Aktion, die in den ersten 2 Tagen polynukleärer, später mononukleärer Natur war.

Bei der Infektion der Tauben mit Menschentuberkulose konnte man bereits nach $^1/_2$ Stunde beobachten, daß sich mononukleäre Leukocyten um die Bacillen gruppierten und Riesenzellen bildeten. In den nächsten Tagen war schwache Phagocytose der Mono- und Polynukleären zu beobachten, aber es prävalierte die Bildung von Riesenzellen, worin fast alle Bacillen eingeschlossen waren. Einige Bacillen waren allerdings immer extracellulär zu sehen.

Dembinski schließt aus seinen Versuchen, daß die Phagocytose bei Tauben verschieden ist, je nach der Wahl der Kultur; bei der Vogel-

---

1) Tuberculose pulmonaire expérimentale. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1893—1894.)

2) Recherches sur le développement d. tuberculose expérimentale. (Archives de méd. exp. et d'anat. path. 1892.)

3) Recherches sur l'histogénèse du tubercule. (Archives de méd. exp. et d'anat. path. 1899.)

4) La phagocytose chez le pigeon à l'égard du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain. (Annales de l'Inst. Pasteur. Bd. XIII.)

tuberkulose ist sie sehr aktiv, und man kann 3 Stadien unterscheiden: Phagocytose der Polynukleären, gemischte Phagocytose und Phagocytose der Mononukleären.

Bei der Infektion mit der Menschentuberkulose beobachtet man eine gemischte Leukocytose im Anfang; Phagocytose der freien Elemente ist nicht besonders ausgesprochen.

Bei meinen Studien über den Mechanismus der Abwehr gegen die Infektion mit Tuberkelbacillen habe ich denselben Weg eingeschlagen, den ich seinerzeit beim Studium der künstlichen Immunität gegen Pest[1]) verfolgt habe.

Zur Anwendung kamen mehrere virulente Stämme der menschlichen Tuberkulose und ein Stamm von Perlsucht, den ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Löwenstein in Belzig verdanke. Sämtliche Kulturen wurden auf Glycerinagar gezüchtet. Nach 6—8 wöchentlichem Wachstum im Brutofen bei 37° C wurden die Kulturen in sterilisiertem Mörser ohne Flüssigkeitszusatz auf das Feinste verrieben, sodann in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Die injizierte Menge betrug $^1/_{10}$—$^1/_8$ einer Agarkultur (ca. 25 mg)[2]).

Den infizierten Tieren wurden dann von Zeit zu Zeit aus der Bauchhöhle Exsudattröpfchen mittels Glaskapillaren entnommen, auf Deckgläschen mit Aetheralkoholmischung fixiert und nach der Gabbetschen Methode (Karbolfuchsin, verdünnte Schwefelsäure mit Methylenblauzusatz) auf Tuberkelbacillen gefärbt.

Die mikroskopische Untersuchung der auf diese Weise gewonnenen Präparate führte zu folgenden Ergebnissen:

Bereits 3 Stunden nach der Infektion war eine lebhafte Leukocytose und Phagocytose der polynukleären Leukocyten auffallend. Einige Leukocyten enthielten viele, andere nur wenige Bacillen, bei allen aber war eine aktive chemotaktische Wirkung ausgeprägt, indem die extracellulär liegenden, intensiv rot gefärbten Bacillen in der Nähe der Leukocyten gruppiert erschienen.

6 Stunden nach der Infektion war die Phagocytose noch stärker ausgeprägt. Die extracellulär liegenden Bacillen waren aber nicht durchweg gut gefärbt; einige erschienen wie gequollen und nahmen nur schwach den Farbstoff auf.

Nach 24 Stunden war die Phagocytose nicht wesentlich verändert; extracellulär konnte man jedoch angeschwollene, nicht gefärbte Bacillen und Granulaformen beobachten.

Nach 2 × 24 Stunden schien die Leukocytose etwas abzunehmen. Nur wenige Leukocyten zeigten normales Aussehen und enthielten gut gefärbte Tuberkelbacillen; die meisten färbten sich schwach und enthielten zahlreiche kleine, farblose Körnchen ohne deutliche Konturen oder sie ließen das Protoplasma wie eine Kappe über dem Kern diffus schwach rosarot erscheinen. Extracellulär konnte man angeschwollene, nur im Zentrum schwach rosarot gefärbte Bacillen, dann zahlreiche

---

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XLII.

2) Um von der Virulenz der meistens verwendeten Kultur (Menschentuberkulose) eine Vorstellung zu geben, erwähne ich, daß bereits $2^1/_2$ mg von derselben Meerschweinchen bei peritonealer Infektion unter dem Bilde allgemeiner Bauchfelltuberkulose in 17 Tagen töteten.

kleine, glänzende, runde Granula mit einem roten Punkt im Zentrum wahrnehmen.

Nach 3 × 24 Stunden erschienen die Mononukleären im Präparate. Die Kerne der Polynukleären färbten sich schlecht. Intracellulär nur spärlich gut gefärbte Bacillen, extracellulär zahlreich stark angeschwollene Bacillen (Riesenformen) diffus rosarot oder an der Peripherie blau oder diffus schwach blau gefärbt, ferner große Keilen- und unregelmäßige Formen, dann zahlreiche runde, farblose, glänzende Granula mit einem roten Funkt im Zentrum oder auch diffus blau gefärbt. Bacillen von normaler Gestalt und Färbung kamen extracellulär nur sehr spärlich vor.

Nach weiteren 24 Stunden war eine gemischte Leukocytose mit vorherrschender Zahl und ausgesprochener Phagocytose der Polynukleären zu beobachten. Die Phagocyten enthielten wieder zahlreiche, gut gefärbte Bacillen. Extracellulär sieht man noch rosarote Granula und Palissadenformen, dann aber auch, allerdings spärlich, Tuberkelbacillen von normaler Form und Färbung.

Nach 5 × 24 Stunden waren die Phagocyten wieder in Abnahme begriffen, um in den nächstfolgenden Tagen vollständig aus dem Gesichtsfelde zu verschwinden, während die extracellulär liegenden Granula noch weiter das Bild beherrschten.

Man sieht aus diesen Versuchen, daß die für Impftuberkulose so empfänglichen Meerschweinchen mit recht ausgesprochenen Abwehrkräften gegen diese Infektion ausgerüstet sind.

Zuerst treten die polynukleären Leukocyten in Aktion, welche die Tuberkelbacillen aufnehmen und in ihrem Innern derart beeinflussen, daß sie die charakteristische Färbbarkeit einbüßen und in Granula zerfallen.

Durch diese Funktion werden allerdings die Phagocyten selbst in ihrer Vitalität arg geschädigt; ihre Kerne färben sich schlecht, ihr Protoplasma sättigt sich mit Zerfallsprodukten der Tuberkelbacillen und zeigt die für diese charakteristische Färbung — mit einem Wort: die Phagocyten degenerieren.

An Stelle der gefallenen Soldaten kommen dann andere: die mononukleären und neue polynukleäre Phagocyten, und der Kampf wird fortgesetzt, bis das Kriegsmaterial des Organismus erschöpft wird.

Außer der Aktion der Zellenelemente sind jedoch noch andere Kräfte in Tätigkeit. Man kann schon in den ersten Stunden nach der Infektion, wo die Phagocytose im vollen Gange ist, beobachten, wie die extracellulär liegenden Tuberkelbacillen anschwellen und an Färbbarkeit verlieren.

Im späteren Verlaufe kann man extracellulär rosarote, farblose oder sogar kontrastgefärbte Riesenformen, Schattenformen und kleine Granula beobachten, welche in Auflösung begriffene Tuberkelbacillen darstellen. Hier könnte man also sprechen von einer Auflösung der Tuberkelbacillen in der Peritoneallymphe ohne Intervention der Leukocyten. Nun möchte ich aber diesen Satz ganz allgemein doch nicht aussprechen, weil es selbst bei dieser extracellulären Auflösung nicht ausgeschlossen ist, daß die Leukocyten durch ihre Zerfallsprodukte doch im Spiele sind.

Wenn man Tuberkelbacillen in vitro mit frischem Serum zusammenbringt und bei Bruttemperatur stundenlang beobachtet, kann man weder Auflösung noch Formveränderung, noch Beeinträchtigung der Färbbarkeit der Tuberkelbacillen wahrnehmen. Es scheint daher das Serum allein ohne Leukocyten unwirksam zu sein.

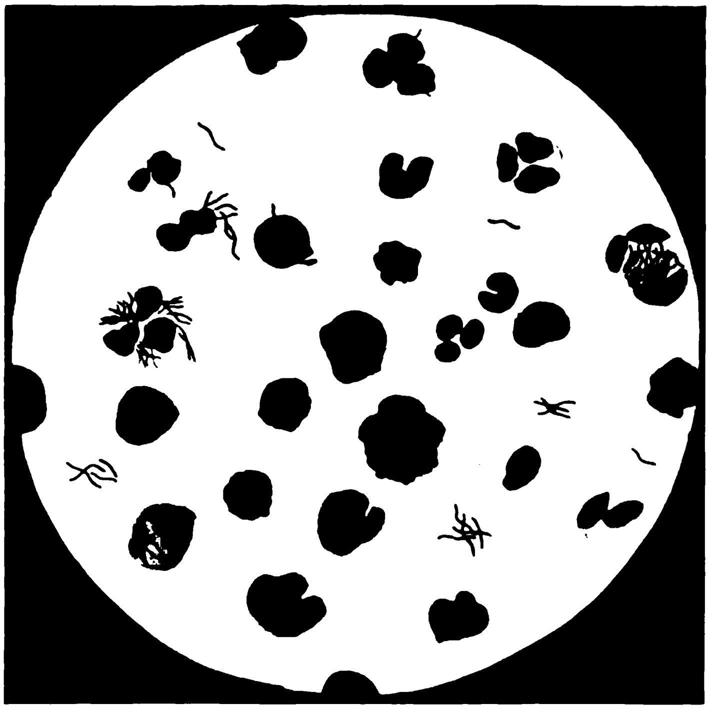


Fig. 1. Gemischte Phagocytose.

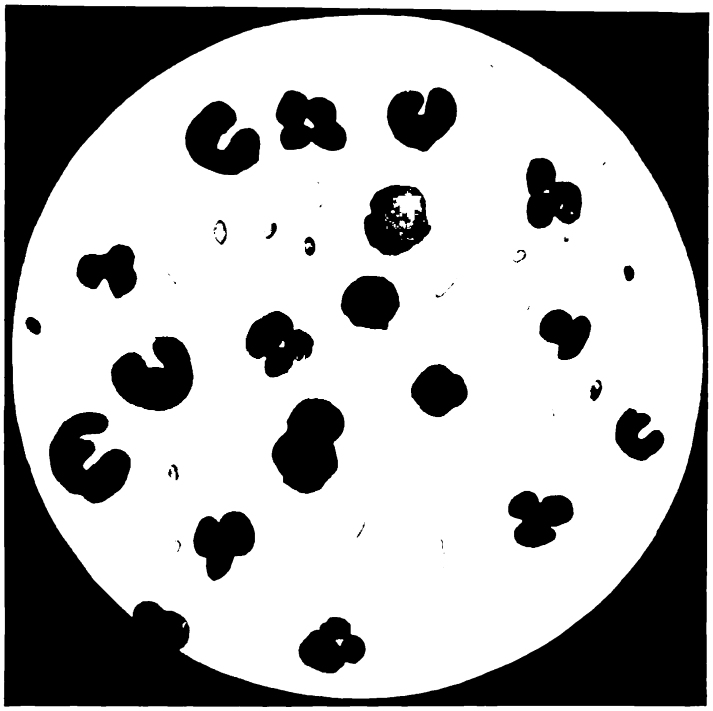


Fig. 2. Extracelluläre Auflösung der Tuberkelbacillen.
(Aufgequollene Bacillen und Granula.)

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

Daß bei der extracellulären Auflösung die Leukocyten im Spiele sein müssen, geht übrigens auch aus dem Befunde hervor, daß die meisten Granula erst knapp vor oder nach dem Abklingen der Phagocytose zum Vorschein kommen. Es hat sogar den Anschein, daß in dieser Phase die Granula aus den Phagocyten austreten, welche ihre Aufgabe bereits vollbracht haben. Ich will auf diese Frage vorläufig nicht näher eingehen und begnüge mich mit der Feststellung der Tatsache, daß in vorgeschrittenen Phasen der Abwehraktion neben normal aussehenden in Phagocyten eingeschlossenen Tuberkelbacillen massenhaft in Auflösung begriffene Formen extracellulär zu finden sind.

Diese Beobachtung dürfte mit der Ansicht der Gegner der Phagocytentheorie, daß die Leukocyten nur abgetötete oder abgeschwächte Mikroben aufnehmen, kaum in Einklang zu bringen sein.

Nachdruck verboten.

Ueber die Virulenz und die immunisierende Wirkung des Typhusbacillus.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr und der bakteriologischen Abteilung des Karol. Institutes in Stockholm.]

Von **Alfred Pettersson.**

Das Wesen der Virulenz und der immunisatorischen Wirkung der Bakterien, besonders solcher, die lytische Immunstoffe erzeugen, ist noch in mehreren Beziehungen recht dunkel. Eingehende Untersuchungen liegen eigentlich nur von Pfeiffer und Friedberger[1]) über den Choleravibrio vor. Diese Forscher stellten fest, daß virulente Cholerastämme weit größeres Bindungsvermögen gegenüber den zu ihnen passenden Ambozeptoren zeigen als avirulente Stämme. Die virulenten absorbierten nämlich aus einem Immunserum eine 5—10mal größere Menge Immunkörper als die nicht virulenten. Daraus folgt ungezwungen, daß im normalen Tierkörper, wo die zum Choleravibrio passenden Ambozeptoren nur in beschränkter Menge vorhanden sind, diese schon durch einen Teil der injizierten Menge virulenter Vibrionen gebunden werden können. Die weitere Entwickelung der übrigen Individuen ist also gesichert, bis die Ambozeptoren durch die Auflösung der Bakterien freigemacht werden.

Es war zu erwarten, daß auch bei Typhus und Pest die Verhältnisse sich ähnlich zeigen würden. Von Pfeiffer und Kolle war schon vorher in Bezug auf Typhus nachgewiesen, daß die Wirkung des Immunserums vom Virulenzgrade der durch das Serum zu beeinflussenden Typhuskultur abhängig war. Eine Oese des hochvirulenten Typhus brauchte zur Auflösung in der Meerschweinchenbauchhöhle eine 10- bis mehrfach höhere Dosis von Immunserum als die gleichgroße Menge eines weniger virulenten.

Inzwischen ist von Wassermann[2]) hervorgehoben, daß die Virulenz des Typhusbacillus in keiner direkten Beziehung steht zum Bindungsvermögen für die Ambozeptoren im Immunserum. Im Gegenteil würden bisweilen weniger virulente Stämme mehr Immunkörper absorbieren als hochvirulente. Dagegen besteht Uebereinstimmung zwischen der bindenden Kraft für Immunkörper und immunitätsauslösender Reaktion im Tierkörper.

---

[1]) Pfeiffer, R. und Friedberger, G., Berl. klin. Wochenschr. 1902.

[2]) Wassermann, A., Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch.

Somit würde also die Beziehung zwischen Virulenz und immunisatorischer Wirkung in Bezug auf den Typhusbacillus eine umgekehrte oder wenigstens ganz andere sein als für den Choleravibrio und den Pestbacillus. Den letzteren betreffend, zeigte nämlich R. Pfeiffer, daß bei Macacus radiatus der erlangte Immunitätsgrad von der Virulenz der geimpften Pestbacillen abhängig ist. Bei dieser Sachlage folgte ich gern dem Vorschlage des Herrn Prof. Pfeiffer, das Wesen der Virulenz des Typhusbacillus einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

Verschiedene Typhusstämme wurden also verschafft, auf ihre Typhusnatur untersucht und die Virulenz geprüft. Zur Verwendung kamen zuerst zwei Stämme (Kbg. und G.) aus der Institutssammlung in Königsberg, von welchen der eine ursprünglich aus Gießen stammte, ein aus Typhusstuhl mittels der Methode von Drigalsky und Conradi (Spr.) und ein aus der Milz eines gestorbenen Typhuspatienten gezüchteter Stamm (Mlz.). Später wurden in Stockholm noch zwei Stämme (H. und St.) in Arbeit genommen. Der Stamm H. war vor einiger Zeit aus einem posttyphösen Absceß bekommen, der zweite, St., war ein alter Laboratoriumsstamm. Typhus Kbg., G. und St. waren völlig avirulent, die anderen dagegen virulent. Die tödliche Dosis war von Typhus Spr. $^1/_{10}$—$^1/_{12}$ Oese, von Typhus Mlz. $^1/_{10}$ und von Typhus H. $^1/_8$ Oese. Besonders Typhus Spr. behielt seine Virulenz sehr konstant und wurde deshalb regelmäßig für die Prüfung der Sera auf Gehalt von Immunkörper verwendet.

Nach dem heutigen Stande unseres Wissens ist eine völlige Identität der Rezeptoren der verschiedenen Rassen einer Bakterienart einerseits, ebensowenig wie der zu den Bakterien passenden Ambozeptoren im Serum verschiedener Tierspecies andererseits anzunehmen. Um eine etwaige Beziehung des Bindungsvermögens der Bakterien für Ambozeptoren zu ihrer Virulenz einwandsfrei feststellen zu können, sollte man bei den Ausfällungsversuchen des Immunkörpers das Serum desjenigen Tieres benutzen, auf das die Virulenz sich bezieht. Dies scheint um so nötiger, als wir noch nicht wissen, wieviel von den artfremden Ambozeptoren im Meerschweinchenkörper komplettiert werden. Um dieser Schwierigkeit so weit als möglich zu entgehen, wurden die Immunsera hauptsächlich vom Meerschweinchen und zu einigen Versuchen von dem diesem Tiere ziemlich nahestehenden Kaninchen für die Untersuchung verwendet.

Zuerst wurden Versuche angestellt, um zu bestimmen, wieviel Ambozeptoren durch die verschiedenen Stämme ausgefällt werden (s. Tabelle I).

Nach Absorption mit $^1/_2$ Oese Typhus enthielt jeder Kubikcentimeter der verdünnten Sera mindestens 25 I.-E. Verschiedene Stämme hatten etwas weniger ausgefällt. Versuche, die Grenzen weiter einzuengen, fielen aber für die verschiedenen Stämme nicht eindeutig aus und werden deshalb nicht angeführt. Jedenfalls enthielt, wie aus der Tabelle hervorgeht, kein absorbiertes Serum mehr als 32 I.-E. oder weniger als 25 per Kubikcentimeter. 1 ccm des unverdünnten Serums enthielt 133 I.-E. Von einer Oese wurden folglich höchstens 83, mindestens

Tabelle I.

Typhusimmunserum eines sehr großen Meerschweinchens. Das Serum war mit 0,5 Proz. Karbolsäure versetzt und 2 Monate alt. Sein Titre war 0,0075. In verschiedenen Röhren wurden je 1 ccm Serum und 1 ccm Kochsalzlösung, die 1 Oese abgetöteter Typhuskultur enthielt, gemischt, $1^1/_4$ Stunden bei + 37° belassen und danach klar zentrifugiert. In der Serie A war die Abtötung der Typhusbacillen durch halbstündiges Erwärmen bei + 58° C bewerkstelligt worden, in der Serie B durch Einwirken von Chloroformdämpfen 15 Minuten erreicht. Angelegte Probekulturen zeigten vollständige Sterilität. Typischer Befund = seröses Exsudat mit zahlreichen Bakterien.

Absorption mit	Zusammen mit einer Oese Typhus Spr. injizierte Menge des absorbierten, verdünnten Serums		
	0,03 ccm	0,04 ccm	0,05 ccm
	A		
Typhus Spr.	M. 280 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.	
Typhus Mlz.	M. 275 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 265 g. Lebt.	
Typhus Kbg.	M. 270 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.	
Typhus G.	M. 260 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.	
	B		
Typhus Spr.		M. 260 g. † in 24 Stdn. Serofibrinöses Exsud. m. sehr wenigen Bakterien.	M. 245 g. Lebt.
Typhus Mlz.	M. 295 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.	
Typhus H.	M. 260 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 270 g. Lebt.	
Typhus Kbg.	M. 275 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 255 g. Lebt.	
Typhus G.	M. 260 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.	
Typhus St.	M. 270 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.	

69 I.-E. ausgefällt. Der größte Unterschied zwischen den verschiedenen Typhusstämmen, 14 I.-E., beträgt also höchstens $^1/_5$ der absorbierten Menge Immunkörper. Daß die 10mal höhere Virulenz gewisser Stämme durch diesen kleinen Unterschied an Absorptionsvermögen erklärt werden kann, ist nicht wahrscheinlich.

Absorptionsversuche mit lebenden Bakterien fielen ganz in derselben Weise aus (s. Tabelle II u. III).

Aus dem Serum, das zu den in der Tabelle II wiedergegebenen Versuchen verwendet wurde, haben die verschiedenen Stämme eine fast genau gleichgroße Menge Immunkörper absorbiert. Von 100 I.-E. in 2 ccm Serum wurden durch eine Oese etwa 76 I.-E. ausgefällt. Diese Menge entspricht genau der Mittelzahl der aus den Versuchen der Tabelle I erhaltenen Maxima, 83 I.-E., und Minima, 69 I.-E. In der Tabelle III ist die Uebereinstimmung der verschiedenen Typhusstämme in Bezug auf Absorptionsvermögen für Ambozeptoren nicht so vollständig. Außerdem ist die absorbierte Menge, per Oese gerechnet, nicht unwesentlich kleiner, nämlich etwa 18 I.-E.

Tabelle II.

Frisches Typhusimmunserum eines Meerschweinchens, Titre 0,02. In 3 Röhren wurden je 2 ccm Serum mit einer Oese lebender Typhuskultur drei verschiedener Stämme vermischt, 3 Stunden in den Eisschrank gestellt und danach zentrifugiert.

Absorption mit	Zusammen mit 1 Oese Typhus Spr. injizierte Menge des absorbierten Serums	
	0,075 ccm	0,085 ccm
Typhus Spr.	M. 265 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 255 g. Lebt.
Typhus Kbg.	M. 260 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.
Typhus G.	M. 260 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 255 g. Lebt.

Tabelle III.

Frisches Typhusimmunserum eines Meerschweinchens. Titre 0,05. 4 Röhrchen mit je 2 ccm Serum wurden mit einer Oese lebender Typhuskultur vier verschiedener Stämme versetzt, 2 Stunden im Eisschranke belassen und danach zentrifugiert.

Absorption mit	Zusammen mit 1 Oese Typhus Spr. injizierte Menge des absorbierten Serums			
	0,07 ccm	0,08 ccm	0,09 ccm	0,1 ccm
Typhus Spr.		M. 250 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 265 g. Lebt.	M. 255 g. Lebt.
Typhus Mlz.		M. 260 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 255 g. Lebt.	M. 270 g. Lebt.
Typhus Kbg.	M. 280 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.	M. 260 g. Lebt.	
Typhus G.			M. 250 g. † in der Nacht. Typischer Befund.	M. 270 g. Lebt.

Tabelle IV.

Frisches Typhusimmunserum eines Kaninchens. Titre 0,005. 5 Röhren mit je 0,5 ccm Serum wurden mit 1,5 ccm Aufschwemmung von Typhusbakterien versetzt, $1^1/_4$ Stunden bei + 37° C belassen und danach zentrifugiert. Die Typhusaufschwemmungen enthielten je 4 Oesen Typhusbacillen in 2 ccm Kochsalzlösung und waren erwärmt $^1/_2$ Stunde bei + 58° C. Probekulturen zeigten vollständige Sterilität.

Absorption mit	Injizierte Menge des absorbierten, verdünnten Serums		
	0,037 ccm	0,04 ccm	0,045 ccm
Typhus Spr.		M. 250 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.
Typhus Mlz.		M. 250 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.
Typhus H.	M. 255 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.	
Typhus Kbg.	M. 250 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.	
Typhus G.	M. 260 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.	

Auch aus Kaninchenserum werden ungefähr gleichgroße Mengen Immunkörper durch die virulenten Stämme wie durch die nicht virulenten ausgefällt.

Es dürfte wohl also als festgestellt betrachtet werden können, daß virulente Typhusbacillen sich nicht durch größere Avidität zum passenden Immunkörper von avirulenten unterscheiden. Alle Versuche haben nämlich übereinstimmend gezeigt, daß die von mir untersuchten Stämme, die mehrere Vertreter der beiden Sorten enthielten, aus demselben Serum von den zwei hier benutzten Tieren eine ungefähr gleichgroße Menge Immunkörper absorbieren. Nach der Ehrlichschen Anschauung würde der Typhusbacillus eine bestimmte Anzahl zu den Ambozeptoren des Meerschweinchens passender Rezeptoren besitzen, die durch Abnahme der Virulenz keine Verminderung erfahren.

In Bezug auf die Eigenschaft, Bildung von Immunkörpern im Tierorganismus hervorzurufen, zeigten die verschiedenen Stämme bedeutende Unterschiede. In der folgenden Tabelle ist das Ergebnis einer Immunisierungsreihe von Kaninchen wiedergegeben.

Tabelle V.

Von jedem Stamme wurden zwei Kaninchen mit je $1/2$ Oese bei + 58 ° C abgetöteter Kultur intravenös injiziert. Am 9. Tage wurden Blutproben genommen und der Titre der Sera auf gewöhnliche Weise mit Typhus Spr. bestimmt.

Gewicht der Kaninchen	Injizierter Typhusstamm	Titre des Kaninchenserums am 9. Tage nach der Injektion
1670 g	Typhus Spr.	0,1
1520 „	" "	0,05
1690 „	" Mlz.	0,09
1515 „	" "	0,2
1730 „	" H.	> 0,5
1650 „	" "	> 0,5
1590 „	" "	> 0,5
1690 „	" Kbg.	> 0,5
1710 „	" "	> 0,5
1480 „	" G.	> 0,5
1900 „	" "	> 0,5
1350 „	" St.	> 0,5
1970 „	" "	> 0,5

Die avirulenten Stämme sowie der virulente Stamm H. erzeugten im Kaninchenkörper kein Immunserum. Es bestätigte sich die anerkannte Tatsache, daß mit völlig avirulenten Bakterien keine bedeutende Bildung von Immunkörpern zu erreichen ist. Der Injektion der beiden virulenten Typhusstämme Spr. und Milz. folgte dagegen eine Neubildung von Immunkörpern. Das Immunserum war freilich nicht sehr hochwertig, aber der Unterschied ist jedenfalls deutlich genug. Das Absorptionsvermögen gegenüber Ambozeptoren ist offenbar nicht die einzige Ursache der Immunkörperbildung. Sicherlich ist noch ein Faktor notwendig, die Neubildung von Ambozeptoren hervorzurufen, und die Sache scheint keineswegs so einfach zu sein, wie es Wassermann behauptet, nämlich daß die Absorptionsfähigkeit für Ambozeptoren in direkter Beziehung zur immunitätsauslösenden Kraft stehe, was für die von mir untersuchten Stämme gar nicht zutrifft.

Auffallend ist, daß der Titre der Sera der mit Typhus Spr. und Mlz. injizierten Kaninchen sehr niedrig war, obwohl die Dosis immunisatoria recht hoch genommen wurde. Ein weit besserer Effekt der Immunisierungen wurde auch von vornherein erwartet und die Versuche wurden deshalb mit Injektion von $^1/_{50}$ Oese begonnen. Das Serum der behandelten Tiere zeigte aber keine Schutzwirkung. Erst nachdem die injizierte Menge toter Kultur bis zu $^1/_5$ Oese erhöht worden war, trat deutliche immunisierende Wirkung zu Tage. Da diese Menge im Vergleich mit der Dosis minima immunisatoria des Choleravibrio und dem Effekt, welchen Injektionen lebender Bacillen hervorzurufen, sehr groß angesehen werden müßte, lag die Annahme sehr nahe, daß die Erhitzung der Typhusbacillen die Eigenschaft, Immunkörperbildung auszulösen, störe. Zwei Kaninchen wurden deshalb mit je einer halben Oese durch halbstündiges Erwärmen bei + 60° C getötetem Typhus Spr. und zwei andere mit gleichgroßer Menge $^1/_2$ Stunde bei + 100° C erhitzter Kultur injiziert. Außerdem wurden zwei Kaninchen mit je $^1/_5$ Oese lebender Kultur injiziert.

Tabelle VI.

Gewicht der Kaninchen	Injizierte Kultur	Titre des Kaninchenserums am 9. Tage nach der Injektion
1420 g	$^1/_2$ Oese b. + 100° C $^1/_2$ Std. erhitzt. Kult.	> 0,5
1410 „	$^1/_2$ " " + 100° " $^1/_2$ " " "	> 0,5
1340 „	$^1/_2$ " " + 58° " $^1/_2$ " " "	0,15
1350 „	$^1/_2$ " " + 58° " $^1/_2$ " " "	0,15
1410 „	$^1/_5$ " lebender Kultur	0,050
1540 „	$^1/_5$ " " "	0,075

Die Vermutung, daß das Erhitzen die immunisierende Wirkung der Typhusbacillen herabsetzt, hat sich also bestätigt. Der Effekt einer Injektion lebender Bakterien ist selbstverständlich mit einer solchen von gleichgroßer Menge getöteter Keime nicht zu vergleichen, da es nicht ausgeschlossen ist, daß die Bacillen in irgend einem Winkel des Tierkörpers sich längere Zeit am Leben halten und in dieser Weise den Immunisierungseffekt erhöhen können. Um diesen Fehler zu vermeiden, wurde die Dosis der lebenden Bakterien bedeutend kleiner genommen als die der getöteten. Nichtsdestoweniger ist der Titre des Serums der mit den ersteren injizierten Kaninchen höher als der des Serums von Tieren, die mit bei + 58° abgetöteter Typhuskultur gespritzt wurden. Injektion von den bei + 100° C erhitzten Bakterien war von keiner Immunkörperbildung gefolgt. Daraus scheint mir einwandsfrei hervorzugehen, daß die Auslösung der Immunkörperproduktion im Tierorganismus mit der Anwesenheit einer von den Bakterien gebildeten thermolabilen Substanz zusammenhängt. Der Typhusbacillus unterscheidet sich in dieser Hinsicht von dem Choleravibrio. Die immunisierende Wirkung lebender Choleravibrionen ist, wie Kolle[1]) nachgewiesen hat, der der getöteten nicht wesentlich überlegen.

Ueber die Natur und Wirkungsweise dieses Körpers wissen wir nichts. Es liegt recht nahe, anzunehmen, daß er mit gewissen giftigen Bestandteilen der Bakterien identisch sein könne. Wie allgemein bekannt, gelingt es nicht, mit einem avirulenten Stamme Immunserum von höherem Titre zu bekommen. Ganz analog hat Wassermann[2]) neulich hervorgehoben, daß es nicht gelingt, mit „ganz un-

---

1) Kolle, W., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896.

2) Wassermann, A., Originalbericht über den Kongreß für Hygiene in Brüssel 1903. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. Ref.)

giftigen Toxoiden, also den reinen haptophoren Gruppen allein", ein hochwertiges antitoxisches Immunserum hervorzubringen. Es dürfte folglich nicht genügend sein, daß die haptophoren Gruppen der Bakterienzellen mit den passenden Rezeptoren der Körperzellen zusammentreten, um eine Produktion von Immunkörpern auszulösen, sondern dazu muß, wie R. Pfeiffer¹) schon hervorgehoben hat, noch ein bestimmter Reiz der letzteren Zellen stattfinden, um die erforderliche Neubildung und Abstoßung der spezifischen Ambozeptoren hervorzubringen. Es kommt mir nicht unwahrscheinlich vor, daß diese thermolabile Substanz das reizende Moment bei der Immunkörperbildung darstellt. Ob sie identisch sein könne mit gewissen toxisch wirkenden Stoffen der Bakterien, die eben nicht sehr thermostabil sind, muß vorläufig dahingestellt bleiben, da eine größere Giftigkeit der virulenten Stämme noch nicht einwandsfrei nachgewiesen ist.

Nach genügendem Erhitzen würden also die virulenten und immunisierenden Typhusbakterien mit nicht virulenten und nicht immunisierenden zu vergleichen sein. Für die Berechtigung einer solchen Annahme ist aber noch die Forderung nötig, daß die Absorptionsfähigkeit für Ambozeptoren durch das Erhitzen nicht herabgesetzt wird. Dies scheint in der Tat auch der Fall zu sein.

Tabelle. VII.

Dasselbe Kaninchenserum wie in Tabelle IV wurde in der Verdünnung von 1 : 4 absorbiert mit gleich großen Mengen Typhuskultur Spr. lebend, getötet durch Erhitzen $^1/_2$ Stunde bei + 58° und die gleiche Zeit bei + 100°. Auf 2 ccm verdünntes Serum kamen 3 Oesen Typhus Spr.

Absorption mit	Injizierte Menge des absorbierten, verdünnten Serums	
	0,043 ccm	0,047 ccm
Typhus Spr. lebend.	M. 280 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 255 g. Lebt.
Typhus Spr. getötet durch Erhitzen $^1/_2$ Stunde bei + 58°.	M. 270 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 260 g. Lebt.
Typhus Spr. getötet durch Erhitzen $^1/_2$ Stunde bei + 100°.	M. 250 g. † in 24 Stunden. Typischer Befund.	M. 250 g. Lebt.

Die bei + 100° C erhitzten Typhusbacillen haben ebensoviel Immunkörper absorbiert als die lebenden und die bei + 58° getöteten, obwohl die ersteren einer Immunkörperbildung auslösenden Kraft völlig entbehren.

Nach dem Gesagten wird es vielleicht verständlich, warum der virulente Typhusstamm H. nach dem Erhitzen $^1/_2$ Stunde bei + 58° C keine immunisierende Wirkung zeigte. Seine Virulenz war ja etwas kleiner als die der zwei anderen und die Menge der genannten thermolabilen Substanz deshalb wohl auch niedriger. Dann ist es nicht unwahrscheinlich, daß nach dem Erhitzen von dieser zu wenig übrig geblieben war, um den nötigen Reiz für die Immunkörperbildung auszulösen.

Für die Erklärung der Virulenz kommt offenbar noch ein Moment in Betracht. Schon 1896 stellten Pfeiffer und Kolle, wie erwähnt, fest, daß dieselbe Menge eines hochvirulenten Stammes zur Auflösung in der Meerschweinchenbauchhöhle eine unter Umständen 10- und mehrfach höhere Dosis von Immunserum brauchte, als die eines weniger

---

1) Pfeiffer, R., Rapport de XI^e Congrès international d'hygiène. Bruxelles 1903

virulenten. Die virulenten Typhusbacillen sind widerstandskräftiger gegen die Einwirkung der lytischen Immunstoffe als die nicht virulenten. Wahrscheinlich äußert sich diese Resistenz in der Weise, daß zur Auflösung der virulenten Typhusbakterien ein Besatz weit größerer Anzahl der vorhandenen Bakterienrezeptoren mit Bakteriolysinen nötig ist als bei den nicht virulenten [1]). Eine Annahme, daß die Affinität der Rezeptoren der virulenten Bacillen zum Immunkörper geringer wäre und diese deshalb erst bei Ueberschuß von Immunkörpern mit Ambozeptoren besetzt werden würden, findet wenigstens durch die vorigen Absorptionsversuche keine Stütze.

Daß diese Widerstandsfähigkeit gegen die Bakteriolysine von Bedeutung ist in Bezug auf die Virulenz, beweist eben die Tatsache, daß die einzige zuverlässige Methode, die Virulenz zu erhöhen bezw. zu erhalten, in der Tierpassage oder im Herausnehmen von Peritonealexsudat nach genügend langer Zeit besteht. Beide sind ja nichts anderes als eine Auslese der widerstandsfähigeren Individuen. Meine virulenten Stämme, besonders Typhus Spr., waren auch sehr widerstandsfähig. Die „Reaktion“ in der Peritonealhöhle nahm immer recht lange Zeit in Anspruch; nach 2 Stunden waren einzelne bewegliche Bakterien mehrmals noch zu sehen, und das Peritonealexsudat solcher Meerschweinchen, die sich glatt erholten, gab 5—6 Stunden nach der Injektion mehrmals üppige Kulturen.

Wenn die Virulenz sich als eine Zusammenfassung der zwei Eigenschaften, Gehalt an thermolabiler, reizender Substanz und Resistenz der Typhusbakterien, zeigt, so wird ein Unterschied bezüglich der immunisierenden Wirkung von lebenden Bakterien, die gleichgroße Virulenz besitzen, leichter verständlich. Die beiden Eigenschaften, die für die Immunkörperbildung wahrscheinlich nicht von gleicher Bedeutung sind, dürften innerhalb gewisser, nicht allzu enger Grenzen variieren können, ohne daß ihre Summe, die Virulenz, wesentlich geändert wird.

Die Resultate, die sich aus den mitgeteilten Untersuchungen ergeben, sind:

Die von mir untersuchten Typhusstämme, sowohl virulente wie avirulente, zeigten alle gleichgroßes Bindungsvermögen für die zu ihnen passenden Ambozeptoren im Serum.

Beim Immunisieren von Kaninchen mit getöteten Kulturen erzeugten die virulenten Stämme Bildung größerer Menge Immunkörper als die avirulenten und die weniger virulenten.

Die Auslösung der Immunkörperbildung im Tiere wird durch Einwirkung einer thermolabilen Substanz veranlaßt.

---

1) Die Möglichkeit eines derartigen Verhaltens war von R. Pfeiffer schon früher in seiner Arbeit „Zur Theorie der Virulenz“ (Festschrift zum 60. Geburtstage R. Kochs, p. 41) betont worden, wo derselbe sich in folgender Weise ausspricht: „Es fragt sich nun, ob der Bau des Rezeptorenapparates den einzigen Unterschied zwischen virulenten und avirulenten Choleravibrionen darstellt. Man könnte versucht sein, bei den virulenten Bakterien eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen die bakteriolytischen Schutzstoffe des Organismus zu supponieren, mit anderen Worten, es wäre möglich, daß bei virulenten Vibrionen zum Zustandekommen des bakteriolytischen Phänomens ein Multiplum derjenigen Menge von Ambozeptoren und Komplement erforderlich ist, welche bei weniger virulenten Vibrionen sich als ausreichend erweist.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. R. Pfeiffer für sein stetiges Interesse und seine Förderung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Stockholm, 22. Oktober 1904.

Nachdruck verboten.

Zur Spezifität der Antikörper.

Von Dr. **H. Lüdke**, Barmen.

In der zweiten Hälfte der 90er Jahre des vorigen Jahrhunderts stand die Frage von der Spezifität der pathogenen Infektionsträger im Vordergrund des Interesses der Bakteriologen und Kliniker. Bakteriologische Befunde in Wässern, in Dejektionen gesunder oder kranker Individuen, die, in unmittelbarem Anschluß an die Entdeckung des Kommabacillus unternommen, Bakterien mit biologischer wie morphologischer Verwandtschaft mit dem Cholerabacillus ergaben, lieferten den ersten Anstoß zu Zweifeln an der Spezifität des Infektionserregers. Aehnliche Befunde von einzelnen dem Bact. typhi sehr nahestehenden Bakterien in Wässern und Faeces erregten scheinbar berechtigte Bedenken an der Spezifität des Typhusbacillus. Der spezifische Charakter der Infektionserreger schien damit gebrochen und der alten Idee, daß unter speziellen Verhältnissen saprophytische und unschädliche Darmbakterien in pathogene Arten übergehen könnten, war somit Tor und Tür geöffnet.

Experimentelle Tatsachen schienen zudem der Ansicht von der nicht spezifischen Wirkung der Bakterien eine gesicherte Basis zu geben. Durch wechselseitige Immunisierungsversuche mit Bact. typhi und Bact. coli glaubte man im tierischen Organismus die Sekretion gleicher Reaktionsprodukte angeregt zu haben, indem zuerst Sanarelli[1]) fand, daß ein typhusimmunes Tierserum gegen die peritoneale Infektion mit Bact. coli schützte und umgekehrt. Die gleichen Versuchsresultate erhielten Demel[2]), Agrò[3]) und Orlandi[2]). Sobernheim und Fraenkel[4]) immunisierten Meerschweinchen gegen Cholerabakterien und sahen dieselben auch gegen andere nahestehende Arten geschützt. Die äquivalenten Produkte von Bact. coli und typhi im Immunserum konnten also hiernach einen Rückschluß auf eine Nichtspezifität der Infektionserreger erlauben.

Diese scheinbar stichhaltigen Versuchsresultate wurden jedoch bald besonders von R. Pfeiffer, einer genauen Kritik unterworfen. Es stellte sich heraus, daß einmal in der Versuchsmethodik ein Fehler begangen war, indem die Tiere mit der einen Bakterienart zu schwach immunisiert und zu früh nach der Injektion der letzten Immunisierungsdosis mit der zweiten Art infiziert waren. Zu einem weiteren Fehlschluß mußte die von Sanarelli, Orlandi, Demel und Agrò angewandte

---

1) Sanarelli, Études sur la fièvre typhoide expérimentale. (Ann. de l'Institut Pasteur. T. VIII. 1894.)

2) Demel u. Orlandi, zitiert nach Sanarelli.

3) Agrò, zitiert nach Loeffler u. Abel, Ueber die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper etc.

4) Sobernheim u. Fraenkel, Beobachtungen über das Auftreten spezifischer Schutzstoffe im Blute von Cholerarekonvaleszenten. (Hyg. Rundschau. 1895.)

Versuchsanordnung führen, die einen wechselseitigen Schutz auf die Injektion der **einfachen** letalen Dosis der **Coli**- und Typhuskultur fanden. Hier setzte eine Arbeit von E. **Neisser**[1]) ein, der gegen die 10—12-fache tödliche Dosis von **Coli**-Kultur geschützten Mäusen die 3-fache tödliche Typhusdosis mit negativem Erfolg injizierte. Der Gegensatz zwischen diesen experimentellen Befunden **Neissers** und denen der vorher genannten Autoren fand seine Erklärung später darin, daß man in den Versuchen **Sanarellis** nicht mit dem Prinzip der Immunität zu tun hatte, sondern lediglich, wie durch Einbringen von Bouillon, physiologischer Kochsalzlösung, Serum, eine Steigerung der Resistenz verursacht hatte. Eine Produktion spezifischer Antikörper war nicht erreicht; denn erfolgte die Infektion mit der zweiten Bakterienart eine längere Zeit nach der Einführung der letzten Immunisierungsdosis, so erlagen die Tiere der tödlichen Dosis. Wir sehen hier also schon die Anfänge der exakten quantitativen Arbeitsmethoden, die, von v. **Behring** und **Ehrlich** schon in der Toxin-Antitoxindosierung geprüft, von R. **Pfeiffer** zuerst auf die Bakteriolysine angewandt wurden. Die Arbeiten von R. **Pfeiffer**[2]), **Wassermann**[3]), **Loeffler** und **Abel**[4]), **Dunbar**[5]), **Funck**[6]), welche sich besonders mit dem Problem der Spezifität der Bakterien beschäftigten, lieferten den strikten Nachweis, daß ein mit einer bestimmten Bakterienart hochimmunisiertes Tier nur gegen diese eine Art spezifisch geschützt ist. Aehnliche Untersuchungen mit gleichem Resultat existieren über den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillus. Hier sind die interessanten Untersuchungen **Sproncks**[7]) zu erwähnen, der nach Immunisierung von Meerschweinchen mit Diphtherieserum sowohl Diphtherie- wie Pseudodiphtheriebacillen injizierte. Die mit Diphtheriebacillen behandelten Tiere zeigten kein lokales Infiltrat, während die mit Pseudodiphtheriebacillen behandelten Meerschweinchen Infiltrate im subkutanen Gewebe davontrugen. C. **Fraenkel**[8]) und **Steenmeyer**[9]) bestätigten diese die Spezifität der Diphtheriebacillen sichernde Tatsache.

Der direkte Schluß von der experimentell erwiesenen Spezifität der aktiven Immunisierung mit einer Bakterienart auf die Spezifität des Infektionserregers war somit gegeben. Die von R. **Koch** durch die bakteriologische Technik ausgebildete **Spezifität der Bakterien** erhielt eine neue, sichere Stütze in der Erkenntnis ihrer **spezifischen Wirkungsweise im Tierkörper**.

---

[1]) **Neisser**, E., Untersuchungen über den Typhusbacillus und das Bact. coli commune. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXIII. 1893.)

[2]) **Pfeiffer**, R., Weitere Mitteilungen über die spezifischen Antikörper der Cholera. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.)

[3]) **Wassermann**, Untersuchungen über einige theoretische Punkte der Immunitätslehre. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXII.)

[4]) **Loeffler** u. **Abel**, Ueber die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute Typhus- und Coli-immuner Tiere. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1896.)

[5]) **Dunbar**, Zum Stande der bakteriologischen Choleradiagnose unter besonderer Berücksichtigung der Pfeifferschen spezifischen Cholerareaktion. (Dtsche med. Wochenschr. 1895.)

[6]) **Funck**, Études sur l'immunité contre la fièvre typhoide. Zitiert nach **Loeffler** und **Abel**.

[7]) **Spronck**, zitiert nach **Lewandowski**, Die Pseudodiphtheriebacillen in ihren Beziehungen zu den Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. No. 3/4.)

[8]) **Fraenkel**, C., Zur Unterscheidung der echten und falschen Diphtheriebacillen. (Hyg. Rundschau. 1896. No. 20 u. Berl. klin. Wochenschr. 1897.)

[9]) **Steenmeyer**, zitiert nach **Baumgarten**. 1897. p. 316.

War damit die Frage von der Spezifität der Infektionserreger, für die wir im vorigen einige Belege anführten, entschieden, so fand die Anwendung des Gesetzes von der Spezifität auch auf die Gifte der Bakterien statt. Als Derivate der Bakterienzelle, des mit spezifischer Wirksamkeit begabten Plasmas, können die löslichen Toxine nur spezifischer Natur sein. Bei ihnen ist der Grad der Spezifität ein noch deutlicher präzisierter als bei den Zellen. Die Spezifität der Wirkungsweise im Organismus, die Spezifität der Immunisierung, stimmt mit der der Bakterienzelle überein; der Spezifitätsbegriff ist hier sogar noch enger gezogen, indem den Toxinen in vielen Fällen Haftstellen in bestimmten Organen charakteristisch sind, die auch in vitro nachzuweisen waren. Diese spezifische Affinität ist jedoch — je nach dem Reizgrade zwischen Organzelle und Giftbindungselement — bei verschiedenen, für das Gift empfänglichen Tieren verschieden stark ausgeprägt. In dieser zur Bindung führenden Verwandtschaft zu bestimmten Zellen, die das Tetanustoxin, nicht aber zugleich das Diphtherietoxin, zu den Zellen der grauen Substanz des Zentralnervensystems besitzt (Dönitz), ist der Ausdruck eines spezifischen Prozesses in diesen Zellen infolge der Reizwirkung des Toxins deutlich erkenntlich.

Diese Spezifität der Bakteriengifte hat fernerhin zur diagnostischen Verwertung geführt: Ein solches „spezifisches Diagnostikum“ besitzen wir im Tuberkulin, das, wie Kolle[1]) sagt, das feinste Reagens auf lebende Tuberkelbacillen im tierischen Gewebe ist. Haben wir so in der Erkenntnis der Spezifität der Infektionserreger ein absolutes Mittel, die Diagnose der Infektionskrankheit zu entscheiden und bietet sich in der spezifischen Wirkungsart einzelner bakterieller Produkte ein sicheres Reagens zur Beurteilung pathologischer Prozesse im Gewebe, so entbehrt im Vergleich hierzu das klinische Bild des direkten Spezifitätsbegriffes. Daher kann die exakte klinische Erkenntnis erst mit dem Nachweis des Infektionserregers oder seiner Reaktionsprodukte im Serum abgeschlossen sein.

Wie sich nach Entdeckung der pathogenen Krankheitserreger ein Streit über ihre absolute Spezifität entspann, in dem die Lehre von der Spezifität den endgültigen Sieg errang, haben sich in den letzten Jahren vornehmlich Stimmen erhoben, die Zweifel an der Spezifität der bakteriellen Reaktionsprodukte im Serum äußerten. Diese Angriffe auf den Spezifitätscharakter der Reaktionsstoffe im Blute sind den verschiedensten Antikörpern gegenüber unternommen worden, und wenn auch nicht in jedem Falle direkte Zweifel an ihrer Spezifität geäußert wurden, so sind trotzdem teilweise experimentelle Tatsachen, teilweise klinische Untersuchungsergebnisse publiziert, die diese Qualität der Immunstoffe in Frage stellten.

Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, diese, ein so eminent wichtiges Gesetz wie das der Spezifität der Antikörper, disqualifizierenden Untersuchungen genauer zu prüfen, zum Teil an der Hand einschlägiger Versuche.

In den Kreis meiner Untersuchungen zog ich die natürlichen und künstlich erzeugten Hämagglutinine, die Hämolysine, die natürlichen und durch Immunisierung erhaltenen Bakterienagglutinine und zu einem kleineren Teil die Cytolysine.

---

[1]) Kolle, Spezifität der Infektionserreger. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen. 1902.)

Zunächst erfordern die Untersuchungen und Anschauungen über die Spezifität der Antitoxine, Bakteriolysine und Präzipitine einen kurzen Ueberblick.

Antitoxine. In einem Tetanusserum kann man die in ihm enthaltenen Antitoxine nur durch den spezifischen Bindungsversuch mit dem Toxin zum Nachweis bringen. Dieselbe spezifische Bindung erfolgt im Organismus wie im Reagenzglas, so daß wir in der spezifischen Wirkung des Antitoxins auf sein zugehöriges Gift die Haupteigenschaft dieser Antikörper sehen. Seltener tritt — und nur bei verwandten Toxinen — eine wenig intensive, wechselseitige Bindung zwischen einem Antitoxin und einem nicht als Ausgangskörper benutzten Toxin ein (so Schlangengiftantitoxin auf Skorpionentoxin).

Die Einwände, durch die der Spezifitätscharakter der Antitoxine in Zweifel gezogen werden könnte, erstreckten sich vornehmlich auf das Verhältnis der spezifischen Bindung zwischen Antitoxin und Toxin. Diese Bindung ist keine ganz untrennbare, wie Wassermann¹) und Calmette²) nachwiesen; es kann aus einem Toxin-Antitoxingemenge bei Vorhandensein von geeigneten Rezeptoren im Organismus, deren Affinität zum Toxin größer ist als dessen Bindungsaffinität zum Antitoxin, das letztere austreten und freies Toxin wirken; eine solche intensive Reizwirkung zwischen Toxin und dazu passendem Rezeptor findet z. B. bei direkter Aufnahme von Tetanustoxin durch die Nervenbahnen statt [Meyer und Ransom³)]. Das im Blute des Immuntieres kreisende Antitoxin hat hier schwächere Affinität zum Toxin wie der spezifischere Rezeptor, der in diesem Falle die freien Seitenketten — Antitoxin — produzierende Nervenzelle ist. Ferner bietet das Antitoxin-Toxingemisch an und für sich im Beginn der Bindung im Organismus eine Erscheinung dar, die, oberflächlich betrachtet, eine Störung im spezifischen Bindungsvorgang erkennen ließ. Es ist dies das Phänomen der Reversibilität, d. h. die Bindung zwischen dem Gifthaptin und spezifischem Antikörper zeigt zu Beginn das Bestreben, in ihre Ausgangselemente wieder zu zerfallen. Ein frisches Diphtherietoxin-Antitoxingemisch dem Kaninchen intravenös eingeführt, ist so hochgiftig, was nach Morgenroth⁴) auf die größere Affinität des nur lose gebundenen Toxins zu den im Körper zerstreut liegenden Rezeptoren zurückzuführen ist. Wurde, nachdem in einiger Zeit eine Festigung des Gemisches eingetreten war, injiziert, so war diese Giftigkeit verschwunden. Das Phänomen der Reversibilität ist demnach in seiner Wirkung zeitlich beschränkt; die Verbindung Toxin-Antitoxin wird endlich untrennbar [v. Dungern⁵)].

Ein weiterer, die spezifische Affinität der Toxine zu den Antitoxinen scheinbar einschränkender Befund war der, daß man in einem mit Antitoxin beladenen Organismus trotzdem die Intoxikation eintreten beobachten kann. Wassermann⁶) hat dies mit Recht auf eine krankhafte Steigerung der Affinität der Gewebsrezeptoren zurückgeführt, welche die

---

1) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXII. 1896.

2) Calmette, Le venin des serpents. p. 58.

3) Ransom, Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXXVIII. 1901; Dtsche med. Wochenschr. 1898.

4) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 20.

5) v. Dungern, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 8/9.

6) Wassermann, Entstehung und Wirkungsweise der aktiven Stoffe im Immunserum. Referat, gehalten auf dem internationalen Kongreß für Hygiene in Brüssel. Sept. 1903.

Verwandtschaft der im Serum frei kreisenden Rezeptoren übersteigen können.

Die Grundidee aller dieser Richtigstellungen ist demnach, daß eine spezifische Bindung zwischen Toxin und Antitoxin oder enger verwandten, nicht freien, antitoxisch wirkenden Körperrezeptoren besteht. Der spezifische Charakter der Entstehung und Wirkungsweise der Reaktionsprodukte konnte erst mit der grundlegenden Theorie P. Ehrlichs in seiner ganzen Bedeutung erkannt werden. Der für das Toxin geeignete Organismus, der in seinen differenten Zellen für dasselbe passende Angriffspunkte bietet, ist die Bedingung für das Entstehen spezifischer Antistoffe, welche schon in ihm vorgebildet (latent) sind und nur auf den adäquaten Reiz, die Immunisierung, mit Ueberproduktion der speziellen Schutzkörper prompt antworden. Die Vorbildung derselben spricht sich schon in ihrem Vorhandensein im normalen Serum aus.

Bakteriolysine. Von verschiedenen Autoren war, wie in der Einleitung bemerkt, konstatiert worden, daß ein mit Bact. typhi immunisiertes Tier Schutzstoffe sowohl gegen Bact. typhi wie gegen Bact. coli aufwies. Das Prinzip der Spezifität der bakteriolytischen Ambozeptoren schien damit erschüttert. Bald nach diesen Befunden wurde jedoch erwiesen, daß die Annahme einer Nichtspezifität dieser Immunkörper auf einer verfehlten Untersuchungsbasis beruhte, indem das Phänomen der Resistenz bei diesen Versuchen ausgelöst wurde, welches den mit Typhus infizierten Organismus befähigte, gegen die tödliche Minimaldosis von Bact. coli mit Erfolg zu reagieren. Loeffler und Abel¹) konnten dagegen in größeren Versuchsreihen nachweisen, daß von einer spezifischen Wirkung der Typhussera auf Bact. coli nicht die Rede sein könne. Die Immunsera von Bact. typhi wie Bact. coli äußerten eine ganz spezifische Wirkungsfähigkeit ausschließlich auf den zur Vorbehandlung benutzten Bacillus. In der Pfeifferschen Reaktion war somit ein absolut spezifisches diagnostisches Mittel gegeben, den zum Immunisierungszweck verwandten Bacillus von anderen, auch noch so nahestehenden Arten exakt zu differenzieren. Diese spezifische bakterizide Wirkung konnte auch in vitro gezeigt werden, sofern nur frisches komplementhaltiges Serum oder Peritonealexsudat zum Immunserum hinzugefügt wurde; diese Probe mittels Auszählung der auf Platten gewachsenen Kolonieen und Vergleich mit der reinen, unvermischten Bakterienaussaat wurde von Neisser²) und Stern³) in die Methodik der bakteriziden Reagenzglasversuche zum Ersatz des Tierexperiments kürzlich erfolgreich eingeführt.

Zu den Einwänden des Pfeifferschen Phänomens gehört einmal die vorhin erwähnte Erscheinung der Resistenz, die unberechtigt mit dieser Spezifitätsreaktion *καιʼ ἐξοχὴν* vermengt wurde. Weiterhin wurde die anscheinend verwirrende Beobachtung gemacht, daß trotz Behandlung mit Immunserum die Bakteriolyse versagt und das frisch infizierte Tier der neuen Infektion erliegt. Dieser eigentümliche Vorgang beruht nach R. Pfeiffer auf der Bildung von Antiambozeptoren, die bei einer

---

1) l. c.

2) Neisser, Die Methoden des bakteriziden Reagenzglasversuches. (Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung von P. Ehrlich. Berlin 1904.)

3) Stern u. Korte, Ueber den Nachweis der bakteriziden Reaktion im Blutserum der Typhuskranken. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No 9.)

Massenwirkung die Bindung zwischen Bakterium und Immunkörper zu sprengen vermögen. Auch diese durch Injektion von Immunserum gewonnenen Antiambozeptoren wurden von Pfeiffer und Friedberger[1]) als spezifischer Natur erkannt; Kaninchen, die mit Choleraziegenimmunserum behandelt waren, ergaben einen Antiambozeptor, der die bakterienzerstörende Eigenschaft des Serums choleraimmunisierter und normaler Ziegen hemmte, während die Choleraambozeptoren anderer Tiere nicht affiziert wurden.

Nicht allein das Immunserum vermag nun den spezifischen bakteriolytischen Prozeß auszulösen, auch Normalserum ist im stande, in die Bauchhöhle des Meerschweinchens zusammen mit virulenter Kultur injiziert, diese spezifische Wirkung auszuüben; allerdings in quantitativ weitaus geringerem Grade. Auch hier gelang mit Benutzung der Ehrlichschen Absorptionsmethode der Nachweis, daß es sich um einzelne, qualitativ differente Komponenten handelte, von denen jedes nur auf sein bestimmtes Bakterium wirkt. Nach Ehrlichs Auffassung haben wir es in diesem Falle mit Partialimmunkörpern zu tun, die durch Stoffwechselvorgänge zur Abstoßung gelangt sind. Die Spezifität ist hier nur relativ, beschränkt für die einzelnen Komponenten des Normalserums, die ihre zugehörigen Gruppen in den differenten Bakterien wiederfinden. Absolute Spezifität wird erst durch einen spezifischen Reizzustand, durch Infektion mit dem Mikroorganismus, erreicht. Der spezifische bakteriolytische Prozeß erleidet aber, wie bei ungenauer Betrachtung scheinen könnte, eine gewisse Einschränkung: Indem wir ein Tier mit Typhusbakterien infizieren, hat sein Serum auch die Fähigkeit, gegen eine etwas höhere Dosis von Bact. coli, das nachträglich eingebracht wird, zu schützen. Dieser Schutz ist um das Doppelte stärker als der durch Normalserum. In dieser von Loeffler und Abel[2]) erkannten und experimentell begründeten Tatsache spricht sich die Familienverwandtschaft beider Bakterienarten aus; die Spezifität des bakteriolytischen Prozesses erleidet dadurch nicht die geringste Einbuße.

Aehnliche Untersuchungen sind bisher nicht publiziert.

Diese den Spezifitätscharakter der bakteriolytischen Ambozeptoren scheinbar negierenden Befunde verlieren jedoch an Bedeutung durch die Untersuchungen, welche eine eingehendere Differenzierung des Protoplasmaleibes der Bakterien zum Gegenstand hatten. Der Bau des Bact. coli bietet nur in seiner originalen Qualität Unterschiede vom Bact. typhi, einzelne gemeinsame Bestandteile des Bakterienprotoplasmas sind im stande, eine Beeinflussung auch anderer Bakterien in geringfügigem Grade zuzulassen.

Jedenfalls erkennen wir auch bei den bakteriolytischen Ambozeptoren das Gesetz von der Spezifität durchgreifend ausgeprägt; der durch Immunisierung erhaltene Immunkörper wirkt zerstörend allein auf sein reziprokes Bakterium. Quantitativ gemessen ist diese Spezifität immer deutlich präzisiert; eine Beeinflussung anderer Mikroben kann in ganz untergeordnetem Grade vorkommen. In diesen Fällen ist lediglich der Ausdruck des Bestehens chemisch nahestehender Moleküle im Bakterienprotoplasma zu erkennen, die ihrerseits eine gegenseitige spezifische Affinität besitzen. Für die Beurteilung des

---

1) Pfeiffer u. Friedberger, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. No. 1.

2) l. c.

Chemismus der Bakterien im Organismus, die wir künstlich in vitro oder exakter im Tierperitoneum nachahmen können, haben wir in der Erkenntnis der Wirkungsweise der spezifischen, im geeigneten Körper entstandenen Stoffe eine Arbeitsmethode, wie eine solche sicherer und vollkommener bisher nicht existiert. Selbstverständlich gehört hierzu das Arbeiten mit den nötigen Kautelen, so die hohe Immunisierung und Verwendung gut pathogener Bakterien resp. die deutliche Auslösung spezifischer Ambozeptoren.

Natürliche und Immunhämagglutinine. Während das Studium der Bakterienagglutinine in lebhaftem Fluß begriffen ist, hat die eingehendere Bearbeitung der Hämagglutinine mit Unrecht eine gewisse Vernachlässigung erfahren, trotzdem das Arbeitsfeld hier die gleiche Ausdehnung besitzt und trotz der bequemen Arbeitsmethodik.

Die Analogieschlüsse von hier auf das Gebiet der Bakterienagglutinine sind in jeder Beziehung statthaft, falls man nur den speziellen toxischen Effekt der Bakterienzelle unberücksichtigt läßt. Der einem Organismus eingeführte fremde Erythrocyt bietet in allen wesentlichen Punkten ein gleiches Bild seiner Wirkungsweise im Blute; Dauer des Aufenthaltes im Blute bis zur Auflösung, der Prozeß des Zerfalls selbst und die aktive Wirkungsäußerung der in Mitleidenschaft gezogenen Zellen, welche die adäquaten Schutzelemente ins Serum abstoßen, die nun nachweisbare Schutzkraft dieses Serums, alle diese Entwickelungsprozesse haben ihr Gegenstück in der Einbringung einer Bakterienzelle in den Tierkörper. Jedoch sind zwei wichtige Momente beim Vergleich und Untersuchung über die Wirkungsweise beider Zellen im fremden Organismus nicht außer acht zu lassen. Einmal haben wir es bei der Bakterienzelle mit einem lebenden Individuum zu tun, das auch innerhalb des Körpers eine gewisse Lebenszähigkeit besitzt und vor allem die bedeutsame Fähigkeit, sich unter günstigen Umständen zu vermehren zeigt. Der Prozeß der Reaktion der Bakterienzelle und der Gegenreaktion der angegriffenen Körperzellen muß sich demnach im allgemeinen infolge der größeren Shockwirkung mit einem größeren Intensitätsgrade, einer ausgesprocheneren Lebhaftigkeit abspielen als bei dem Prozeß an den injizierten Erythrocyten und der Gegenwirkung der betroffenen Zellkomplexe. Als wichtige, die Untersuchungen öfter benachteiligende Komplikation kommt noch das Moment der Fortpflanzungsfähigkeit der Bakterienzelle hinzu.

Die zweite Differenz beim Vergleich von Bakterienzelle und Körperzelle läßt sich zwanglos aus der oben erwähnten ableiten. Die Bakterienzelle hat ein selbständiges, ihr eigenartiges physiologisches Prinzip, das als anatomisches Substrat in ihrem gifttragenden Protoplasmaleib ausgebildet liegt. Diese Selbständigkeit eines Teiles seines Protoplasmas spricht sich sehr schön in der Wirkung aus, daß durch bakterielle Immunisierungen in allerminimalster Dosis prompt ein hoher immunisatorischer Titer des Serums ausgelöst werden kann, während z. B. mittels Körpereiweißinjektionen in bedeutend größerer Dosis keine biologische Reaktion erhalten wird. In gutem Einklang mit diesem Faktum steht auch die Beobachtung Pfeiffers und Friedbergers[1], daß virulentere Bakterienstämme — bei denen also die dem Bakterium originale Funktion deutlicher, entwickelt ist — eine stärkere Auslösung von Ambozeptoren zur Folge haben. Der Wirkungsgrad einer den Rezeptoren liefernden Zellen chemisch-biologisch nahestehenden Eiweißart wird demnach hinter dem eines konzentrierten, selbständigen, schlecht oder nicht assimilierbaren Protoplasmas weit zurückstehen. Von der Qualität des Bakterienprotoplasmas zu der des natürlichen, gewissermaßen herangezüchteten Körperzellenprotoplasmas ist eben ein weiter Schritt.

---

[1] Pfeiffer und Friedberger, Zitiert nach: Wirkung und Art der aktiven Substanzen der präventiven und antitoxischen Sera von R. Pfeiffer. Ref. auf dem Kongreß für Hygiene in Brüssel. Sept. 1903. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1904. Heft 7/9.)

Sehen wir aber von diesen beiden, mehr graduellen Differenzierungsmerkmalen ab, so können wir alle Beziehungen, die von der Wirkungsweise der Körperzellen im fremden Organismus sich ableiten, auf die Bakterienzelle übertragen.

Die ausführliche Beschreibung der Wirkungsweise der natürlichen Hämagglutinine findet sich bei Malkoff[1]). Nach Malkoff agglutiniert normales Ziegenserum Menschen-, Tauben- und Kaninchenblutkörperchen, und zwar beruht diese Agglutinationsfähigkeit auf 3 verschiedenen auf jede der genannten Erythrocytenarten passenden Agglutininen. Durch elektive Absorption, z. B. durch Bindung der Taubenblutkörperchen an das Ziegenserum, gelang es Malkoff, das Verschwinden des Taubenblutagglutinins aus dem Ziegenserum markant nachzuweisen; im Abguß über den zu Boden gesunkenen, agglutinierten Blutkörperchenmassen waren die beiden anderen Agglutinine — für Menschen — und Kaninchenblutkörperchen — in Lösung geblieben und übten ungeschwächt ihre Agglutinationskraft auf die ihnen entsprechenden Blutkörperchen aus. Malkoff schließt seine Abhandlung damit, daß er das Vorhandensein verschiedener, spezifischer Agglutinine in einem derart wirksamen Serum annimmt, von denen jedes seine spezifische Affinität zu der betreffenden Blutkörperchenart hat.

In den Kreis unserer Betrachtungen zog ich die im normalen Hundeserum enthaltenen Agglutinine, die mir bei anderweitigen Untersuchungen über das Hundeserum in deutlich ausgesprochener Weise zur Erscheinung kamen.

Bevor ich jedoch derartige natürliche Hämagglutinine in Hundeseris in Betracht zog, galt es zunächst, die etwa vorhandene hämolytische Fähigkeit des normalen Hundeserums bez. verschiedener Blutkörperchenarten außer Rechnung zu setzen. In wiederholten Untersuchungen ergab sich folgendes, fast gleichmäßig wiederkehrendes Bild.

Hämolyse durch Normalhundeserum.

Hundeserum	Blutkörperchen von	Hämolyse
3 Tropfen	Rind	schwache Lösung
3 „	Schwein	—
3 „	Taube	—
3 „	Ratte	—
3 „	Kaninchen	—
3 „	Maus	—
3 „	Meerschweinchen	—
3 „	Pferd	stärkste Lösung
3 „	Mensch	„ „
3 „	Hammel	schwächere Lösung

---

[1] Malkoff, Beiträge zur Frage der Agglutination von roten Blutkörperchen (Dtsche. med. Wochenschr. 1900. No. 14.)

Es braucht nun durchaus nicht immer jedes Hundeserum Lösung der angeführten Blutkörperchen herbeizuführen; manche Sera zeigten nur Spuren von Lösung bei deutlicher Agglutinationsfähigkeit, andere wieder glatte Lösung der Blutkörperchenart. Malkoff seinerseits gibt an, daß Blutserum mancher Ziegen bisweilen auch hämolytisch wirkt; man muß daher unter mehreren Tieren dasjenige aussuchen, welches am intensivsten die Erythrocyten zur Agglutination bringt. Die Variabilität dieser Erscheinungen in verschiedenen normalen Hundeseris ist bei diesen Untersuchungen in Betracht zu ziehen. Ob modifizierte Ernährungsprozesse, die nach Ehrlich zur Erklärung dieser Erscheinungen herangezogen werden können, eine Beeinflussung dieser variablen Prozesse ausmachen, ist meines Wissens bisher hier nicht untersucht worden; nach entsprechenden Befunden bez. der Bakterienagglutinine im menschlichen Serum jedoch wohl anzunehmen.

Weiter wurde die Agglutinationskraft des normalen Hundeserums auf eine Reihe verschiedener Erythrocyten mit Berücksichtigung des Agglutinationstiters geprüft:

Agglutination durch Normalhundeserum.

Verdünnung des Hundeserums	1 ccm 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung von	Agglutination	
		sofort	nach 2 Stunden
1 : 1	Taube	Agglutination vollständig	
1 : 20	„	—	Spur von Agglutination
1 : 1	Kaninchen	Agglutination vollständig	
1 : 20	„	—	—
1 : 1	Schwein	Agglutination vollständig	
1 : 20	„	—	—
1 : 1	Meerschweinchen	Agglutination vollständig	
1 : 20	„	—	—
1 : 1	Ratte	Agglutination vollständig	
1 : 40	„	—	Spur von Agglutination
1 : 1	Maus	Agglutination vollständig	
1 : 66	„	—	Agglutination vollständig

Im allgemeinen scheint der Agglutinationswert des normalen Hundeserums den Blutkörperchen anderer Warmblüter gegenüber nur niedrig zu sein; eine Verdünnung von 1 : 1 selten zu überschreiten. Allerdings konnte ich bei einigen Hundeseris auch höhere Agglutinationswerte, bis zur Verdünnung von 1 : 100, nachweisen.

Zur Bestimmung der Spezifität der Agglutinationsfähigkeit normalen Hundeserums wurde nun folgende, im wesentlichen von Malkoff angegebene einfache Methode angewandt:

Zu 1 ccm der 5-proz. Aufschwemmung der verschiedenen Blutkörperchen (in 0,875-proz. Kochsalzlösung), die vorher sorgfältig durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung vom anhaftenden Serum befreit waren, wurde eine bestimmte, zur Agglutination ausreichende Menge Hundeserums zugesetzt, das $^1/_2$ Stunde lang bei 56° C im Wasserbad erhitzt war. Die Serum-Blutkörperchen enthaltenden Röhrchen kamen für 2 Stunden in den Thermostaten, danach wurde abzentrifugiert und der erhaltene klare Abguß zur Agglutination der einzelnen Blutkörperchen benutzt. Zu dem Zwecke wurde 1 Oese des Abgusses mit 1 Oese der betreffenden Blutkörperchenart gut vermischt und das Resultat mikroskopisch im hängenden Tropfen beobachtet. Die Agglutination wurde an der vollständigen Verklumpung der Blutkörperchen, die zu größeren, dicken, über- und untereinander geschichteten Häufchen zusammengeballt sind, erkannt.

Da alle Untersuchungen des normalen Hundeserums — im ganzen wurden 4 Sera in dieser Hinsicht untersucht — ein im wesentlichen gleiches Resultat bezüglich der Agglutination der differenten Blutkörperchen gaben, will ich nur einen dieser Fälle durch eine genauere Tabelle veranschaulichen:

					Agglutination
Hundeserum	wirkt ein auf	Schweineblut	Abguß auf	Schweineblut	—
„	→	„	→	Taubenblut	vollst. Aggl.
„		„		Meerschweinchenblut	„ „
„		„		Kaninchenblut	„ „
Hundeserum	→	Taubenblut	→	Taubenblut	—
„		„		Schweineblut	vollst. Aggl.
„		„		Kaninchenblut	„ „
„		„		Meerschweinchenblut	„ „
Hundeserum	→	Kaninchenblut	→	Kaninchenblut	—
„		„		Schweineblut	vollst. Aggl.
„		„		Taubenblut	„ „
„		„		Meerschweinchenblut	„ „
Hundeserum	→	Meerschweinchenblut	→	Meerschweinchenblut	—
„		„		Kaninchenblut	vollst. Aggl.
„		„		Schweineblut	„ „
„		„		Taubenblut	„ „

Wurde das Hundeserum zu einer 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung hinzugefügt, so hatte der nach 2 Stunden erhaltene klare Abguß sein Agglutinationsvermögen für Kaninchenblut verloren, agglutinierte jedoch noch ungeschwächt Schweine-, Tauben- und Meerschweinchenblut. Wurde weiter der neue nach darauffolgender Einwirkung auf Schweineblut erhaltene Abguß auf Agglutination gegenüber Schweineblut geprüft, so trat keine Agglutination für Schweine- und Kaninchenblut mehr auf, während Tauben- und Meerschweinchenblut noch zusammengeballt wurde. Auch die noch gebliebene Agglutinationsfähigkeit für Taubenerythrocyten konnte durch Hinzufügen des letzten Abgusses zu Taubenblut in den allermeisten Fällen dem Hundeserum genommen werden.

Das Hauptergebnis aller dieser Untersuchungen ist dies: Läßt man ein verschiedene Blutkörperchen agglutinierendes natürliches Serum auf eine dieser Erythrocytenarten längere Zeit einwirken, so erfolgt eine prompte Bindung des für diese Erythrocyten spezifischen Agglutinins, während die für die anderen Blutkörperchen spezifischen Agglutinine noch im Abguß gut nachweisbar sind. Dies eine Agglutinin ist mit seinen passenden Blutkörperchen verankert und aus der verdünnten Serumflüssigkeit verschwunden, auch nicht minimale Spuren sind mehr von ihm bei Berücksichtigung der quantitativen Bindungsverhältnisse zu entdecken. Es existieren also im Hundeserum so viele spezifische Agglutinine, als dies Serum verschiedene Species verschiedener Blutkörperchen zu agglutinieren vermag. Damit ist zu den Befunden Malkoffs über die Agglutinationsfähigkeit des Ziegenserums differenten Blutkörperchen gegenüber ein neuer Beweis für die Spezifität der Hämagglutinine im normalen Hundeserum erbracht.

In einem solchen normalen Serum haben wir keine durch eine Vorbehandlung erzeugte Spezifität gegenüber einer Zellart gefunden, sondern hier ist eine variable schwankende Spezifität der Agglutinationsreaktion gegeben, die sich lediglich nach der Stoffwechselbilanz und einigen Gesetzen der Verwandtschaft der Tierklassen regelt. Es bleibt noch unentschieden, ob ein Vorherrschen der Spezifität gegenüber einer Zellart häufig vorhanden, ob die Stärke der Reaktion unter gewissen Bedingungen (Aenderungen im Stoffwechsel) schwanken kann und ob alle Tiere derselben Species gewöhnlich diese Reaktion unter gleichmäßigen Bedingungen zeigen können. Daß verschiedene Hämagglutinine im Normalserum kreisen, ist konstatiert, ebenso daß jedes dieser Agglutinine seine bestimmte spezifische Reaktion hat. Gerade zum Nachweis der Spezifität der Agglutinine eignen sich die Versuche an den Erythrocyten ihrer Größe und vielleicht ihres weniger komplizierten Baues wegen besonders gut zur Orientierung. *Die Spezifität ist hier eine deutlich ausgesprochene Erscheinung; jedes Agglutinin hat seine Qualität für sich gegenüber den spezifischen Zellen ausgebildet.*

Bei den Immunhämagglutininen hat durch die Injektion einer bestimmten Erythrocytenart das auf dieselben passende Agglutinin eine dominierende Stellung im Serum des vorbehandelten Tieres erhalten. Der Fähigkeit des normalen Serums, auf die roten Blutkörperchen unterschiedlicher Tiere agglutinierend zu wirken, ist damit eine bestimmte einseitige Direktion gegeben, indem die agglutininbildenden Zellkomplexe in Ueberreizung und Ueberproduktion gebracht, ihre Wirksamkeit in dieser einen bestimmten Richtung äußern. Der Spezifitätscharakter der so erzeugten Agglutinine wird demnach in dem Intensitätsgrade der Reaktion deutlicher ausgeprägt sein; ferner durfte auf eine Injektion einer bestimmten Blutkörperchenart nicht nur gegen diese, sondern eventuell — wenn auch in weitaus geringerer Stärke — gegen differente Blutkörperchen Agglutinin gebildet werden. Nur bei oberflächlicher Betrachtung müßte man die Agglutininbildung als eine unkomplizierte einheitliche Zellreaktion auffassen, falls man in jedem Falle nur eine Wirkungsfähigkeit allein auf das zur Vorbehandlung dienende Material annähme. Wie verkehrt eine solche oberflächliche Annahme ist, geht aus folgendem Versuch hervor: Einem 950 g schweren, rötlich-braunen, weiblichen Kaninchen werden 10 ccm Hundeblutkörperchen intraperitoneal injiziert. Vor der Injektion war die agglutinierende Kraft dieses Kaninchenserums die:

Verdünnung 1:1	Verdünnung 1:10	Verdünnung 1:20
Hundeblutkörp. sofort aggl.	Hundeblutkörp. Spur aggl.	Hundeblutkörp. nicht aggl.
Mausblutkörp. sofort aggl.	Mausblutkörp. vollst. aggl.	Mausblutkörp. nicht aggl.
Hammelblutkörp. nicht aggl.	Hammelblutkörp. nicht aggl.	Hammelblutkörp. nicht aggl.

Hämolytische Fähigkeit trat jedoch bei Zusatz von 3 Tropfen dieses Kaninchenserums zu 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung auf.

7 Tage nach der Injektion erhielten wir bezüglich der Agglutination der Hunde- und Mausblutkörperchen durch dies Serum folgendes Bild:

Verdünnung 1:40	Verdünnung 1:66	Verdünnung 1:200
Hundeblutkörp. sofort aggl.	Hundeblutkörp. aggl.	Hundeblutkörp. Spur aggl.
Mausblutkörp. sehr stark aggl.	Mausblutkörp. aggl.	Mausblutkörp. nicht aggl.

Scheinbar entgegen dem Gesetz der Spezifität war also nicht allein ein starkes Agglutinationsvermögen für Hundeblutkörperchen hervorgebracht worden, sondern auch die vorher noch in einer Verdünnung von 1 : 10 agglutinierten Mausblutkörperchen wurden durch das Immunserum stärker beeinflußt. Eine gleiche Beobachtung bezüglich der künstlich erzeugten Hämagglutinine existierte bisher nicht; was die Bakterienagglutinine betrifft, sind allerdings, wie im weiteren näher ausgeführt werden soll, ähnliche Beobachtungen von Lubowski und Steinberg[1]) und Verf.[2]) bereits publiziert.

Den Anschauungen über die Zusammensetzung der Zellen in biologischer Beziehung entsprechend, müssen wir in diesem Falle im Hunde- und Mausblutkörperchen verwandte Elemente annehmen, die, ins Blut eines geeigneten Organismus gebracht, eine wechselseitige Abstoßung von passenden Rezeptoren zur Folge haben. Nicht nur der für den Hundeerythrocyten passende Rezeptor wird bei Behandlung eines Kaninchens mit Blutkörperchen vom Hund abgestoßen, in relativ schwächerem Grade erfolgt auch eine Einwirkung und Abstoßung der auf Mausblut passenden Rezeptoren. Die Spezifität der Agglutination hervorrufenden Reaktionsprodukte im Serum erleidet dagegen nur eine scheinbare Einbuße mit Rücksicht auf den absoluten Charakter der Agglutinine; spezifisch sind die ins Serum abgestoßenen Rezeptoren für ihre Ausgangselemente. Mit der Bindung des Hundeblutagglutinins an die Hundeerythrocyten mußten demnach beide Agglutinine aus dem Kaninchenserum verschwinden; während bei Bindung an Mausbluterythrocyten nur das auf Mausblut spezifische Agglutinin abgesättigt wurde. Der entsprechende Absorptionsversuch verlief so:

Je 0,1 ccm des Immunkaninchenserums wurden zu je 1 ccm 5 Proz. Hunde- und Mausblutkörperchen gesetzt; die Mischung 1 Stunde bei 37 ° C stehen gelassen. Danach waren die Hundeblutkörperchen vollständig agglutiniert, die Mausblutkörperchen stärker zu Häufchen geballt. Nach sorgfältigem Abzentrifugieren wurden die klaren Abgüsse benutzt:

1) Abguß vom agglutinierten Hundeblut.

Verdünnung 1 : 1		Verdünnung 1 : 10	
Zu Hundeblutkörperchen	keine Aggl.	Zu Hundeblutkörperchen	keine Aggl.
Zu Mausblutkörperchen	„ „	Zu Mausblutkörperchen	„ „

2) Abguß vom agglutinierten Mausblut.

Verdünnung 1 : 1		Verdünnung 1 : 10	
Zu Mausblutkörperchen	keine Aggl.	Zu Mausblutkörperchen	keine Aggl.
Zu Hundeblutkörperchen	vollst. „	Zu Hundeblutkörperchen	vollst. „

Verdünnung 1 : 40		Verdünnung 1 : 66	
Zu Mausblutkörperchen	keine Aggl.	Zu Mausblutkörperchen	keine Aggl.
Zu Hundeblutkörperchen	sehr starke Aggl.	Zu Hundeblutkörperchen	stärkere Aggl.

Verdünnung 1 : 100.	
Zu Mausblutkörperchen	keine Aggl.
Zu Hundeblutkörperchen	„ „

Andere Versuche zur Klarstellung des spezifischen Charakters der Einzelagglutinine in einem Immunserum wurden an zwei anderen Kaninchen unternommen. Einen dieser Versuche will ich näher ausführen:

---

[1]) Lubowski und Steinberg, Ueber Agglutination von Typhusbacillen bei Proteus- und Staphylokokkeninfektion. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX 1904. Heft 5/6.)

[2]) Lüdke, Agglutination bei Autointoxikationen, mit besonderer Berücksichtigung des Ikterus. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. Heft 1/2.)

Einem mittelgroßen, grauen, weiblichen, 1455 g schweren Kaninchen werden 15 ccm Hundeblut subkutan einverleibt. Vor der Injektion agglutinierte das Kaninchenserum Hundeblutkörperchen gar nicht, Hammel- wie Schweineblutkörperchen jedoch in einer Verdünnung von 1 : 1. Nach etwa 2 Wochen agglutinierte das Serum Hundeblutkörperchen in folgender Stärke:

5-proz. Hundeblutaufschwemmung.

Verdünnung 1:20	Verdünnung 1:50	Verdünnung 1:100	Verdünnung 1:200	Verdünnung 1:500
sofort Aggl.	nach $1/2$ Stde Aggl.	nach 1 Stde Aggl.	nach $1/2$ Stde Aggl.	nach 2 Stdn. stärkere Aggl.

Zu je 2 ccm von Hunde-, Schweine- und Hammelblut wurden jetzt je 0,1 ccm des Immunserums zugesetzt; die Gemische blieben 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, danach trat eine schöne Agglutination der Hundeblutkörperchen auf; man sah kleine rote Pünktchen deutlich zu Boden sinken; gegenüber den Hammel- und Schweineblutkörperchen trat die Reaktion nur sehr unvollständig auf. Sodann wurde gut zentrifugiert und die klaren Abgüsse, wie folgt, benutzt:

I. Abguß nach Bindung an Hundeblutkörperchen.

Verdünnung	Zu Hundeblut	Zu Schweineblut	Zu Hammelblut
1:1	fast vollst. Aggl.	—	—
1:10	—	—	—

II. Abguß nach Bindung an Hammelblutkörperchen.

Verdünnung	Zu Hammelblut	Zu Hundeblut	Zu Schweineblut
1:1	—	vollst. Aggl.	nicht ganz vollst. Aggl.
1:10	—	„ „	—
1:50	—	„ „	—
1:100	—	—	—

III. Abguß nach Bindung an Schweineblutkörperchen.

Verdünnung	Zu Schweineblut	Zu Hundeblut	Zu Hammelblut
1:1	—	vollst. Aggl.	nicht ganz vollst. Aggl.
1:10	—	„ „	—
1:20	—	sehr starke Aggl.	—
1:50	—	—	—

Dasselbe Immunkaninchenserum wurde weiterhin zur Bestimmung der elektiven Absorption der einzelnen Agglutinine auf Hunde- und Mausblutkörperchen geprüft. Der Agglutinationswert des Serums vor der Injektion auf Mausbluterythrocyten war leider nicht bestimmt worden. Nach der Injektion wurden Mausblutkörperchen noch in einer Verdünnung von 1 : 50 vollständig agglutiniert. Der Agglutinationstiter für die zur Vorbehandlung verwandte Blutart — Hundeblut — war mittlerweile im Verlauf von 5 Wochen von 1 : 500 auf 1 : 100 herabgesunken.

Zu je 0,2 ccm dieses Immunserums werden je 2 ccm 5-proz. Hundeblutkörperchen und 5-proz. Mausblutkörperchen zugesetzt. Nach einstündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur sind beide Blutarten gut agglutiniert.

I. Abguß nach Hundeblutkörperchen.

Verdünnung	Zu Hundeblut	Zu Mausblut
1:1	Spur von Agglutination	vollständige Agglutination
1:10	—	—

II. Abguß nach Mausblutkörperchen.

Verdünnung	Zu Mausblut	Zu Hundeblut
1:1	—	vollständige Agglutination
1:10	—	„ „
1:40	—	stärkere Agglutination
1:66	—	Andeutung von Agglutination

Die Versuchsreihen ergeben diese markanten Resultate:

Das spezifisch auf Hundeerythrocyten wirkende Immunserum des Kaninchens mit dem für Hundeblutkörperchen wirksamen Agglutinationstitre von 1 : 500 hat nach 1-stündiger Einwirkungszeit auf Hundeblut den allergrößten Teil seiner bindungsfähigen Substanzen an die Hundeblutkörperchen abgeben müssen. Dennoch gelang es in diesem Versuche nicht ganz vollständig, die auf Hundeblut spezifisch eingestellten Agglutinine sämtlich nach ihrer Bindung außer Aktion treten zu lassen. Der Abguß wies noch bei einer Verdünnung von 1 : 1 Häufchenbildung auf. Vergleichen wir diese minimale Agglutinationskraft des Abgusses mit dem Titre des Serums, der damals 1 : 500 betrug, so muß der Schluß, daß die Hämagglutinine eine ganz spezifische Bindung erfahren haben, einleuchten. Daß noch Spuren von ihnen im Abguß sich nachweisen ließen, konnte nur darauf beruhen, daß die Menge der bindenden Agglutinine im Serum zu groß resp. das zur Bindung verwandte Blutkörperchenquantum zu klein war, also in einer Beziehung ein gewisser Ueberschuß vorhanden war. Zugleich mit dem außerordentlich starken Verlust an auf Hundeblut gerichteten Agglutininen war auch eine völlige Einbuße der agglutinierenden Substanzen auf Hammel- und Schweineblut eingetreten. — Ein anderes Bild bot sich dar, wenn wir das spezifische Kaninchenserum auf Hammel- oder Schweineblut einwirken ließen. Der Abguß büßte nach Absättigung an die einzelne Blutart seine agglutinierende Kraft auf dieselbe ein, behielt sie jedoch für andere Erythrocyten. Allerdings trat auch hier, wie der Versuch lehrt, eine Herabsetzung im Agglutinationsvermögen ein; die teilweise wohl schon der entstehenden Verdünnung im Abguß auf Rechnung zu setzen ist. Immerhin war noch ein deutlicher Einfluß auf die anderen Blutkörperchen zu erzielen. Ebenso wie Hetsch und Lentz[1]) bezüglich der Bakterienagglutinine nachwiesen, konnte auch ich in diesen Fällen von Hämagglutination keine Steigerung des Agglutinationstitres für die Blutkörperchenart, mit der immunisiert war (Hundeblut), nach Absättigung der „Nebenagglutinine“ entdecken: der Titre für Hundeblut sank nach Einwirkung auf Hammelblut auf 1 : 50; nach Einwirkung auf Schweineblut auf 1 : 20.

Im Kaninchenorganismus wurde also beim Zerfall der injizierten Hundeblutkörperchen die Abstoßung von auf Hundeblut spezifischer

---

1) Hetsch und Lentz, Beiträge zur Frage nach der Spezifizität der im Serum des normalen und choleraimmunisierten Pferdes enthaltenen Agglutinine. (Festschr. z. 60. Geburtstag von R. Koch. Jena 1903.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Hämagglutinine und in geringerem Grade die Sekretion von Nebenagglutininen für die Erythrocyten anderer Tiere, hier für Mausblut ausgeführt, angeregt, ein Beweis, daß die Hundeblutzelle nicht als morphologische Einheit aufzufassen ist. Vielmehr bildet sie einen Komplex verschiedenartiger in ihr enthaltener Elemente, die im stande sind, ihre entsprechenden verwandten Reaktionsprodukte bei dem Immunisierungsprozeß aus geeigneten Zellen ins Serum zu sezernieren. Nach der Abstoßung ins Serum findet bei passend gewählten quantitativen Bindungsverhältnissen eine quantitative Absättigung der einzelnen Agglutinine an ihre bestimmten Blutarten statt: die im Serum vorhandenen, künstlich erzeugten Hämagglutinine sind spezifischer Natur.

Hämolysine. Ehrlich und Morgenroth[1]) zitieren in Anmerkung in einer ihrer grundlegenden Arbeiten über die Hämolysine, daß ihnen bei Untersuchungen über die Verschiedenheit der cytophilen Gruppen homologer Immunkörper eine hämolytische Wirkung des Serums von mit Ochsenblut vorbehandelten Kaninchen sowohl auf Ochsenblut wie auf Hammelblut aufgestoßen sei. In größeren Versuchsreihen studierten sie den analogen Befund, der sich ihnen bei der Einwirkung von Immunserum mit Ochsenblut behandelter Kaninchen auf Ochsenerythrocyten wie auf Ziegenerythrocyten darbot. Die Hämolyse des Ziegenblutes trat bei Einwirkung etwas größerer Dosen von Immunkörper auf. Bei der Aufstellung eines Proportionsverhältnisses ergibt sich jedoch keine konstante Zahl, sondern ein deutliches Schwanken der wechselseitigen Immunkörperdosen bei den einzelnen untersuchten Kaninchenseris. Schon auf Grund dieses wechselnden Verhältnisses der Lösungsfähigkeit dieses hämolytischen Immunserums auf Ochsen- und Ziegenblutkörperchen konnten Ehrlich und Morgenroth eine Mehrzahl von mit verschiedenen cytophilen Gruppen versehenen Immunkörpern annehmen, von denen einer auf die Ochsenerythrocyten, der andere auf Ziegen- und Ochsenerythrocyten einwirkt. Durch elektive Absorption des einzelnen Immunkörpers an seine zugehörigen Blutkörperchen fanden sie ihre Annahme vollauf bestätigt, so daß sie in einem treffenden Schema 3 Fraktionen bindender Gruppen der Blutkörperchen annehmen konnten, von denen die eine nur in Ochsenblutkörperchen, die zweite nur in Ziegenblutkörperchen und die dritte in beiden Blutarten vorkommt. Auch gelang es ihnen in einem ähnlichen Versuche nachzuweisen, daß bei Behandlung von Kaninchen mit Ziegenblutkörperchen eine Rezeptorenfraktion erhalten wurde, die gleichfalls auf beide Blutkörperchen wirkte. Wurden im Absorptionsversuche die nach der Behandlung mit Ziegenblut entstandenen Immunkörper an Ziegenblut gebunden, so war für beide Blutarten die Lösungsfähigkeit verschwunden, während nach der Behandlung mit Ochsenblutkörperchen der auf Ziegenblut wirkende Anteil fast vollständig in der Flüssigkeit erhalten blieb, wie das gleiche Verhältnis vice versa bei dem mit Ochsenblut behandelten Kaninchenserum stattfand.

In den Kreis unserer Untersuchungen wurde die wechselseitige Immunisierung von Kaninchen mit Ochsen- wie Hammelblutkörperchen gezogen, und in der Tat erhielten wir bei geeigneter Versuchsanordnung die gleichen Resultate, die Ehrlich und Morgenroth in ihren Fällen erzielten.

---

1) Ehrlich und Morgenroth, Ueber Hämolysine. VI. Mitteilung. (Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung. Berlin 1904.)

Einem mittelkräftigen, grauen, männlichen, 1318 g schweren Kaninchen wurden 20 ccm defibrinierten, vom Serum möglichst befreiten Ochsenblutes subkutan injiziert. Vor der Behandlung lösten 6 Tropfen dieses Kaninchenserums weder Ochsenblut noch Hammelblut auf.

Am 9. Tage nach der Injektion:

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	" "

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	stärkere Lösung

Am 14. Tage nach der Injektion:

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	vollständige Lösung

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	" "

Am 17. Tage nach der Injektion:

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	" "

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	vollständige Lösung

Am 18. Tage nach der Injektion:

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	vollständige Lösung

3 Tropfen Kaninchenserum zu 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung

sofort	keine Lösung
nach 2 Stunden	vollständige Lösung

Die Lösung des Ochsenbluts durch das hämolysinreiche Kaninchenserum erfolgte hier spät (am 14. Tage nach der Injektion); nach anderen von mir [1]) mitgeteilten Befunden ist der durchschnittliche Termin des ersten deutlichen Auftretens dieser Hämolysine im Kaninchenblutserum der 8.—10. Tag. Auffallend war ferner, daß bereits am 9. Tage eine stärkere Lösung der Hammelblutkörperchen vorhanden war. Diese Lösungsfähigkeit für Hammelblut verlor sich jedoch später wieder und ließ den Ochsenblut-Immunkörper voll zur Geltung kommen. Erst relativ spät (es wurde alle 2 Tage untersucht) fand sich eine vollständige Lösung für Hammelerythrocyten — am 17. Tage nach der Injektion.

Auch das von Ehrlich und Morgenroth und Verf. näher beschriebene Phänomen der Antiautokomplementbildung in mit Ochsenblut behandeltem Kaninchenserum stellte sich hier wieder ein, indem am 17. Tage nach der Injektion bei Einwirkung von 3 Tropfen Kaninchenserum auf Ochsenblut keine Lösung eintrat, am folgenden Tage jedoch die Hämolysine in ihrer alten Stärke nachgewiesen werden konnten.

Ein Vergleich der Lösungskraft dieses Kaninchenserums auf Ochsen- wie Hammelblut ergab nun folgendes Bild:

---

[1]) Lüdke, Beiträge zur Hämolyse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. Heft 2/3.)

Zu 1 ccm Ochsenblut fallende Mengen des mit Ochsenblut immunisierten Kaninchens.

Gelöst in:		Gelöst in:	
0,5 ccm	10 Minuten	0,08 ccm	30 Minuten
0,3 „	20 „	0,05 „	45 „
0,1 „	20 „	0,02 „	2 Std. Spürchen

Zu 1 ccm Hammelblut fallende Mengen des mit Ochsenblut immunisierten Kaninchens.

Gelöst in:		Gelöst in:	
0,5 ccm	25 Minuten	0,08 ccm	65 Minuten
0,3 „	30 „	0,05 „	$1^3/_4$ Stunden
0,1 „	40 „	0,02 „	2 Std. keine Lösg.

Es war demnach ein in der Zeit und der Intensität der Wirkung deutlicher Unterschied in der Lösungskraft des Kaninchenserums gegenüber Ochsen- wie Hammelblut zu beobachten, indem Ochsenblut, das zur Vorbehandlung diente, schneller und stärker gelöst wurde als Hammelblut. Dieser Befund wies schon auf differente cytophile Gruppen homologer Immunkörper hin.

Zum Nachweis der Spezifität dieser „Immunkörpertypen“ galt es nun, mittels der Absorptionsmethode eine völlige Absättigung der Ambozeptoren mit den dazu passenden Blutkörperchen zu erzielen. Die anfänglichen Versuche, in denen mit einer relativ kleinen Blutkörperchenmenge gearbeitet wurde, führten nur ein unvollständiges, teilweise zu falschen Schlüssen leitendes Resultat herbei; nach der Bindung an Ochsenblut waren immer noch ganz ungesättigte, freie Ambozeptoren in der Abgußflüssigkeit nachzuweisen, und zwar die Ambozeptoren, die infolge ihrer geringen Affinität zu den Ochsenerythrocyten frei geblieben waren, während die verwandteren, auf Ochsenblut eingestellten Immunkörper sämtlich an ihre Blutkörperchen gefesselt waren. Die Abgußflüssigkeit bewirkte daher noch eine Lösung der Hammelblutkörperchen. Im anderen Falle — der Bindung an Hammelblut — mußte analog der Abguß noch freie, wirksame Gruppen für Hammelbluterythrocyten enthalten, weil die Bindungsmöglichkeit eine geringer ausgeprägte war; die Abgußflüssigkeit löste daher allerdings in großer Menge und in längerer Einwirkungszeit nochmals neu hinzugefügte Hammelblutkörperchen auf. Durch Verwendung größerer Blutkörperchenquanta und sorgfältigste Mischung konnten diese Fehler vermieden werden und ähnlich den Ehrlichschen und Morgenrothschen Befunden hatten wir folgende Resultate:

Zu je 2 ccm einer 5-proz. Ochsenblut- wie Hammelblutaufschwemmung werden verschieden große Immunkörpermengen des mit Ochsenblut vorbehandelten Kaninchens gesetzt. In der zweiten und dritten Zahlenreihe finden sich die Lösungsverhältnisse des aktiven Ochsenblut-Kaninchenserums auf Ochsenblut- wie Hammelblutkörperchen im Verlauf einer Einwirkungszeit von 2 Stunden bei 37° C angegeben. In der vierten und fünften Reihe folgt die Lösungsfähigkeit der Abgüsse. Diese wurden dermaßen erhalten: Zu wechselnden Quanta des bei 58° C inaktivierten Kaninchenserums werden wieder je 2 ccm Ochsen- (= Abguß A) wie Hammelblutkörperchen (= Abguß B) zugesetzt. Die Gemische, die auf 3 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt sind, werden 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur gehalten, danach scharf zentrifugiert und die Abgüsse A (von Ochsenblut) und B (von Hammelblut) zu je 8 Tropfen mit Hinzufügung der notwendigen Komplementmenge (2—3 Tropfen Meerschweinchenserum) weiter benutzt.

Immunkörperquanta	Ochsenblut gelöst in 2 Stunden	Hammelblut gelöst in 2 Stunden	Lösungsfähigkeit der Abgüsse			
			Abguß A nach Bindung an Ochsenblut		Abguß B nach Bindung an Hammelblut	
			zu Ochsenblut	zu Hammelblut	zu Ochsenblut	zu Hammelblut
0,3 ccm	vollständig	vollständig	—	—	vollständige Lösung	—
0,1 „	„	Spur von Lösung	—	—	stärkere Lösung	—
0,08 „	sehr starke Lösung	do.	—	—	Spur von Lösung	—
0,03 „	Spur von Lösung	keine Lösung	—	—	—	—

Dasselbe Bild zeigt sich in gleicher Versuchsanordnung bei einem zweiten mit Ochsenblut behandelten Kaninchen, so daß wohl die vorstehende Tabelle zur Orientierung genügen mag.

In dem mit Ochsenblut vorbehandelten Kaninchenblut, von dem geringere Mengen eine 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung prompt zur Lösung brachten, mußten demnach 2 Fraktionen von Immunkörpern angenommen werden, von denen der eine direkt spezifisch auf den Rezeptor des Ochsenblutkörperchens eingestellt war, der andere auch auf den Rezeptor der Hammelerythrocyten. Wurde der erstere durch Absättigung mit seinen spezifischen Blutkörperchen dem Serum entzogen, so war er auch für das Hammelblut verschwunden; beide Fraktionen banden sich an die zur Vorbehandlung dienende Blutkörperchenart. Wurde dagegen die Bindung des Serums mit den Hammelblutkörperchen erzielt, so war der Abguß noch auf Ochsenblutkörperchen wirksam; er hatte nur die für Hammelblut passende Fraktion verloren. Es waren also nach der Injektion des Ochsenblutes in den Kaninchenorganismus 2 Immunkörperfraktionen entstanden, was auf verwandte Komponenten im Bau des Ochsenblut- wie Hammelblutkörperchens hinwies, die zur Bildung ihrer typischen Reaktionsprodukte geführt hatten. Damit ist ein weiterer Beitrag zur Lehre von der Pluralität der Ambozeptoren gegeben. Ehrlich und Morgenroth drückten sich hier so aus: „Es werden daher von einem derartigen Immunserum alle diejenigen Elemente affiziert werden können, die irgend einen der Rezeptorentypen mit der ursprünglichen Zelle a gemeinsam haben.“

Es wurden weitere Versuche unternommen, durch Injektionen von Hundeblut beim Kaninchen ähnliche Verhältnisse zu finden und zu durchforschen. Und in der Tat lösten die Sera derart behandelter Kaninchen nicht nur Hundeblutkörperchen, sondern auch Hammelblutkörperchen auf. 0,05 ccm dieses Immunserums genügte, um nach $^1/_2$ Stunde Einwirkungszeit prompte, vollständige Hämolyse einer 5-proz. Hundeblutaufschwemmung zu veranlassen. Es mußten also auch hier 2 Immunkörpertypen angenommen werden, die beim Zerfall des aus einzelnen, wirksamen Komponenten bestehenden Hundeblutkörperchens spezifische Reaktionsprodukte entstehen ließen. Die ferneren Versuche wurden jedoch abgebrochen, weil sich Hundeblut schlecht zu hämolytischen Zwecken verwerten läßt, indem die Hundeblutkörperchen öfter schon nach kürzester Zeit der Einwirkung des spezifischen Serums zu dicken

Klumpen am Boden des Probierröhrchens agglutiniert sind. Auch durch wiederholtes Schütteln war in den einzelnen Versuchen häufiger keine deutliche, einwandsfreie Hämolyse zu erzielen.

Eine der ersten analoge Versuchsreihe wurde endlich durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblut durchgeführt. Ich will einen dieser Versuche hier ausführlicher aufzeichnen:

Einem großen, schwarz-weißen, weiblichen Kaninchen werden 20 ccm defibrinierten Hammelblutes subkutan injiziert. Vor der Injektion lösten 6 Tropfen dieses Kaninchenserums Hammelblutkörperchen nicht auf.

Zu 1 ccm Hammelblut fallende Mengen des mit Hammelblut behandelten Kaninchens

	Gelöst in		Gelöst in
0,3 ccm	10 Minuten	0,05 ccm	20 Minuten
0,1 „	15 „	0,02 „	1¼ Stunden
0,08 „	15 „		

Zu 1 ccm Ochsenblut fallende Menge des mit Hammelblut behandelten Kaninchens

	Gelöst in		Gelöst in
0,3 ccm	45 Minuten	0,05 ccm	—
0,1 „	in 2 Stdn. Spur von Lösung	0,02 „	—
0,08 „	„ 2 „ „ „ „		

Im allgemeinen war hier im Vergleich zu der Lösungskraft des mit Ochsenblut behandelten Kaninchens auf die zur Vorbehandlung dienende Blutkörperchenart die Intensität und Schnelligkeit der Lösung eine erheblichere; die Ausbildung der beiden Immunkörpertypen war dagegen bei dem Ochsenblutkaninchen deutlicher ausgesprochen.

Die Tabelle der Lösungsfähigkeit der Abgüsse nach wechselseitiger Bindung an Hammelblutkörperchen wie Ochsenerythrocyten ergab folgendes Bild:

Immunkörperquanta	Hammelblut gelöst in 2 Stunden	Ochsenblut gelöst in 2 Stunden	Lösungsfähigkeit der Abgüsse			
			Abguß A nach Bindung an Hammelblut		Abguß B nach Bindung an Ochsenblut	
			zu Hammelblut	zu Ochsenblut	zu Ochsenblut	zu Hammelblut
0,3 ccm	vollständige Lösung	fast vollst. Lösung	—	—	—	vollständige Lösung
0,1 „	do.	do.	—	—	—	do.
0,08 „	stärkere Lösung	Spur von Lösung	—	—	—	stärkere Lösung
0,03 „	Spur von Lösung	—	—	—	—	—

Auch bei diesen Untersuchungen trat bisweilen das Phänomen der elektiven Absorption an das spezifische Blutkörperchen undeutlicher zu Tage, ohne jedoch irgendwie einen Zweifel an der direkten Spezifität der beiden Immunkörpertypen zuzulassen.

Wir kommen nun zu folgenden für den Spezifitätscharakter der Hämolysine im Immunserum wichtigen Schlüssen: Im Serum eines mit einer bestimmten Blutkörperchenart behandelten Kaninchens werden wenigstens 2 Typen von Ambozeptoren von den hämolysinproduzierenden Zellen sezerniert. Eine dieser Fraktionen, um mich des von Ehrlich gewählten glücklichen Ausdruckes zu bedienen, wirkt allein auf die ursprüngliche zur Injektion verwandte Art von Erythrocyten, die andere auch auf eine andere differente Blutkörperchenart. Es läßt sich hieraus weiter der wohlberechtigte Schluß ziehen, daß eventuell bei weiteren Untersuchungen noch lösende Einwirkungen eines solchen Immunserums auf andere Blutkörperchen als die von mir angeführten gefunden werden, daß also eine Mehrheit von Immunkörpertypen bei der Injektion einer bestimmten Erythrocytenart im Serum entsteht. Die Lösungskraft eines solchen Immunserums ist auch in anderer Beziehung noch keine einseitig beschränkte; so konnte ich mich überzeugen, daß Serum von Tieren, die mit Thyreoidextrakten oder Ovarienextrakten vorbehandelt waren, nicht nur bestimmte cytolytische Veränderungen an diesen Zellarten hervorbrachten, sondern auch die Blutkörperchen der Tiere, von denen die Organe entnommen waren, zur Auflösung brachte.

Analoge Verhältnisse wurden zuerst von v. Dungern[1]) beschrieben, der eine Einwirkung von durch Injektion mit Flimmerepithel erzeugter Immunkörper auch auf die Blutkörperchen des betreffenden Tieres, dem das Flimmerepithel entnommen war, fand.

Wir müssen daher eine spezifische Wechselbeziehung zwischen den Komponenten der zur Behandlung dienenden Zellart und den durch sie ausgelösten Reaktionsprodukten annehmen. Spezifisch sind die durch Immunisierung mit einer Zellart erhaltenen Immunkörper in Bezug auf die in derselben enthaltenen Komponenten.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zur Theorie und Praxis der Gruber-Widalschen Agglutinationsprobe.

[Aus dem kgl. hygienischen Universitätsinstitut zu Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.)]

Von Dr. **Robert Scheller,** Assistent am Institut.

In allerjüngster Zeit war ich in der Lage, in eingehenden Versuchen das Wesen der Agglutinine näher zu studieren, und konnte, wie ich in zwei kürzlich erschienenen Arbeiten näher auseinandergesetzt habe, es erweisen, daß die Agglutinine Körper außerordentlich komplexer Natur sind, Substanzen, die aus zahlreichen miteinander eng zusammenhängenden und miteinander nahe verwandten Komponenten bestehen. Diese Komponenten haben funktionelle Beziehungen zu den einzelnen Agglutinogenbestandteilen des Bakterienleibes und variieren in verschiedenen Seris in ihren Mengenverhältnissen, je nach der zur Immunisation verwandten Agglutinogensubstanz. — Es sind dies Resultate, welche teils die schönen Versuche von Joos bestätigen, teils aber mit den Schlußfolgerungen der Joosschen Arbeit sich in Widerspruch setzen; denn Joos hatte dort in, wie ich glaube, allzu schematischer Weise das Typhusimmunagglutinin als aus einem thermolabilen und einem thermostabilen Körper zusammengesetzt angenommen. — Kraus und Joachim halten in ihrer jüngst veröffentlichten interessanten Arbeit im wesentlichen an dieser Joosschen Annahme fest, wenn sie auch — unabhängig von meinen Versuchen — doch zu der Ansicht kommen, daß die Verhältnisse bei den agglutinierenden Seris komplizierter liegen, als es sich Joos vorgestellt hat. — Ich glaube jedoch annehmen zu dürfen, daß nichts in den Versuchen von Joos sowohl als auch Kraus und Joachim gegen meine Annahme von einer ziemlich weitgehenden Komplexität der Agglutinine spricht — eine Annahme, zu der ich auf Grund meiner Agglutinations- und Bindungsversuche kommen mußte.

---

[1]) v. Dungern, Beiträge zur Immunitätslehre. (Gesammelte Arb. z. Immunitätsforschung von P. Ehrlich. Berlin 1904.)

Wie dem auch sei, nicht nur meine Versuche, sondern auch jene von Kraus und Joachim ergeben es klipp und klar, wie kompliziert die Wirkungsweise der agglutinierenden Sera vor sich geht, und wie ungerechtfertigt es ist, den Vorgang und das Wesen der Agglutination, sowie die Bindungsvorgänge, wie es z. B. jüngst Arrhenius tat, einzig und allein nach physikalisch-chemischen Prinzipien schablonenhaft mittelst einer mathematischen Formel erklären zu wollen.

Wenn der Tierversuch solche Resultate ergibt, daß auch bei gleichartig vorgenommener Immunisation der gleichen Tierspecies verschiedene Individuen oft Sera verschiedener Struktur zeigen, so muß dies notgedrungen auf dem Wege von Analogieschlüssen zu der Ansicht führen, daß auch bei der Infektion des Menschen sich wohl Immunsera finden lassen werden, welche, obzwar alle vom gleichen Krankheitserreger herrührend und für diesen spezifisch wirksam, dennoch in ihrer Agglutininstruktur und in ihrer Wirkungsweise verschiedenen Charakter zeigen. Das Studium der Wirkungsweise der Sera von Typhuskranken ist schon deshalb von Wichtigkeit, weil hierdurch möglicherweise einerseits Fehldiagnosen häufiger sich werden vermeiden lassen, andererseits es sich vielleicht herausstellen wird, daß das Versagen der Serumreaktion bei sicheren Typhusfällen oft nur ein scheinbares ist und tatsächlich bei Einhaltung gewisser Vorsichtsmaßregeln und bei einer besseren Kenntnis der Serumeigentümlichkeiten sich vermeiden läßt.

Aus diesen Gründen hielt ich es für angezeigt, die Struktur und die Wirkungseigentümlichkeiten menschlicher Typhusimmunsera einem genauen Studium zu unterziehen; über die einschlägigen Untersuchungen, die im Gange sind, werde ich bei einer späteren Gelegenheit im einzelnen berichten.

Im folgenden seien nun Beobachtungen mitgeteilt, die ich gelegentlich der Anstellung der Gruber-Widalschen Reaktion mit sehr zahlreichen Serumproben gemacht habe, welch letztere dem hiesigen hygienischen Institut zum Zwecke der Typhusdiagnose eingesandt worden waren.

Es war auffallend, wie verschiedenartig die Wirkungsweise verschiedener Sera war — ich sehe hier natürlich von dem quantitativen Ausfalle der Reaktion ab, der, wie jedem bekannt, bedeutend variiert — und wie verschieden sich namentlich die Reaktionen in ihrem zeitlichen Verlaufe verhielten. Trotz der großen Verschiedenheit der einzelnen Sera lassen sich hier nicht Typen aufstellen; was hier mitgeteilt werden soll, seien bloß Beispiele für den verschiedenartigen Ausfall der einzelnen Gruber-Widalschen Reaktionen.

Voraussetzung ist für die Anstellung der Gruber-Widalschen Reaktion, daß ein gut erprobter Typhusstamm verwandt wird, der mit Typhusseris jedweder Provenienz gut agglutinabel sich erweist. Deshalb möchte ich bemerken, daß der Stamm, der zur Anstellung unserer Typhusreaktionen verwandt wurde, sich stets in sehr hohem Grade agglutinabel erwies bei Anwendung von experimentell gewonnenen Typhusimmunseris jedweder Provenienz sowie bei allen klinisch sicheren, in ihrem Verlaufe verfolgten Typhusfällen.

Zur Kontrolle wurden andere Typhusstämme benutzt, die, wenn unser Teststamm inagglutinabel sich erwies, auch niemals agglutiniert wurden.

Dies vorauszuschicken ist deshalb wichtig, weil es bereits seit langem bekannt ist, daß verschiedene Typhusstämme eine verschiedene Agglutinabilität zeigen und man deshalb gut daran tut, mit einem erprobten Teststamme zu arbeiten.

Ferner muß man bei der Gruber-Widalschen Reaktion stets darauf achten, daß die Methodik der Probe immer dieselbe ist, daß weiterhin stets gleichaltrige, unter denselben Bedingungen gezüchtete Kulturen des betreffenden Stammes verwandt werden. Wie sehr Aenderungen in der Züchtungsweise des Stammes zu Aenderungen in dem Ausfall der Reaktion führen, hat namentlich Kirstein eingehend studiert; ferner habe ich im Anschlusse an Beobachtungen, die ich gelegentlich meiner Agglutinationsversuche wiederholt gemacht habe, in Gemeinschaft mit Dr. Liedtke spezielle Studien über den Einfluß der Methodik auf den Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion gemacht, deren Mitteilung demnächst erfolgen dürfte.

Hier sei nur mitgeteilt, daß die in unserem Institut angewandte Methodik wohl die größten Garantien für eine Genauigkeit der Werte bietet. Angewandt werden stets 18-stündige Agarkulturen. Die Anwendung der Agarkulturen schließt die Versuchsfehler aus, die ein Arbeiten mit Bouillonkulturen, deren Reaktion, Salzgehalt und Wachstumsdichte schwankt, stets aufzuweisen hat, selbstverständlich vorausgesetzt, daß der Agar stets derselbe ist und daß, wie bereits oben erwähnt, das Alter der Kultur stets gleich gewählt wird. In je 1 ccm der genau titrierten Serumverdünnung (verdünnt wird mit 0,8-proz. Kochsalzlösung) wird 1 Normalöse dieser Typhusagarkultur aufgeschwemmt. Die Proben werden 2 Stunden im 37°-Brutschrank belassen, eventuell noch längere Zeit bei Zimmertemperatur. Die Reaktion wird stets makroskopisch — oder für weitsichtige Augen mit Lupe — betrachtet. Um die Agglutination in den oberen Grenzwerten sichtbar zu machen, wird das Probierröhrchen fast horizontal über dem Beschauer bei schräg von vorn-oben einfallender Lichtquelle gehalten; es werden bei geübtem Auge — bei nicht kurzsichtigem unter Anwendung der Lupe — stets selbst Spuren von Agglutination mit Sicherheit diagnostiziert werden können.

Als sicher positiv können wir die Probe betrachten, wenn sie zumindestens in einer Verdünnung von 1 : 40 vollständig, in der Verdünnung 1 : 80 noch deutlich agglutiniert wird.

Unter solchen Kautelen und bei genauer Beobachtung durch längere Zeit hindurch sind die Reaktionen angestellt worden, von welchen in folgendem die Rede sein soll.

In einer großen Reihe von Reaktionen mit Seris verschiedener Typhuskranken kann man eine gewisse Gesetzmäßigkeit im zeitlichen Verlauf der Reaktionen beobachten: Kurze Zeit ($^1/_4$ Std. bei Zimmertemperatur) nach Anstellung der Reaktion sind mehr oder minder starke Konzentrationen agglutiniert, erst nach Ablauf von 2 Stunden Brutschrankaufenthalt ist der Höhepunkt der Reaktion zumeist gänzlich oder beinahe erreicht. War die Reaktion anfangs negativ oder nur sehr niederwertig, so ist die Schlußreaktion ebenfalls verhältnismäßig nicht sehr hoch; war die Reaktion dagegen bereits kurz nach Beginn hochwertig, so ist sie am Schlusse zu Werten angestiegen, die mit den Anfangswerten in einem ähnlichen Verhältnisse stehen, wie die vorzitierte niedrige Schlußreaktion zu ihrer Anfangsreaktion (s. Tab. I und Tab. II; sämtliche Tabellen der Arbeit zeigen beispielsweise Ausfälle von Gruber-Widalschen Reaktionen mit uns eingesandten Seris von sicheren Typhuskranken).

Tabelle I.

	sogleich	$^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	weiter 1 Std. Zimmertemp.	20 Std. Zimmertemperatur
1:10	0	unvollständig	vollständig	vollständig	vollständig
1:20	0	0	"	"	"
1:40	0	0	"	"	"
1:80	0	0	unvollständig	unvollständig	unvollständig
1:160	0	0	0	Spuren	Spuren
1:320	0	0	0	0	0
1:640	0	0	0	0	0
1:1280	0	0	0	0	0

Tabelle II.

	sogleich	$^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	weiter 1 Std. Zimmertemp.	20 Std. Zimmertemperatur
1:10	unvollst.	vollständig	vollständig	vollständig	vollständig
1:20	0	unvollständig	"	"	"
1:40	0	Spuren	"	"	"
1:80	0	0	"	"	"
1:160	0	0	unvollständig	"	"
1:320	0	0	Spuren	unvollständig	unvollständig
1:640	0	0	0	Spuren	"
1:1280	0	0	0	0	0

Ein derartiger Verlauf der Reaktion ist, wie gesagt, ziemlich häufig; ja es kann wohl unter Umständen passieren, daß Untersuchern, die nicht gerade eine außerordentlich große Zahl von Typhusuntersuchungen anzustellen hatten, möglicherweise immer oder größtenteils ein derartiger Verlauf der Gruber-Widalschen Reaktion zur Beobachtung gekommen sein mag, so daß wohl hieraus der Schluß gezogen werden könnte, der Verlauf müsse stets ein derartiger sein. Ebenso könnte man vielleicht infolgedessen sich veranlaßt sehen, eine Gruber-Widalsche Reaktion bereits nach ihrer anfänglichen Intensität zu beurteilen, und einen Gruber-Widal, der anfangs oder $^1/_4$ Stunde nach Beginn (bei Zimmertemperatur gehalten) sich negativ, auch in den starken Konzentrationen zeigt, schon im Vorhinein als höchstens schwach positiv, und umgekehrt eine Reaktion, die bereits im Anfange des Verlaufes in den Werten 1 : 20 oder gar 1 : 40 Agglutination zeigt, als sehr stark positiv zu betrachten. Doch so einfach und regelmäßig gesetzmäßig liegt die Sache nicht; der Verlauf der diagnostischen Agglutinationsproben bringt oft unvorhergesehene Ueberraschungen. Proben, die anfangs schwach positiv oder ganz negativ sich erweisen, steigen oft in ihrem Verlaufe bis zu hohen Agglutinationswerten, während umgekehrt Proben, die bereits

anfangs verhältnismäßig hohe Werte zeigten, in ihrem Verlaufe keine oder nur eine sehr geringe Steigerung erfahren (s. Tab. III und IV).

Tabelle III.
(Ein Typhuskrankenserum, das anfänglich sehr niedrig, schließlich im Verlaufe sehr hoch reagierte.)

	gleich	$^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	weiter 1 Std. Zimmertemp.	20 Std. Zimmertemperatur
1 : 10	0	Spuren	vollständig	vollständig	vollständig
1 : 20	0	0	„	„	„
1 : 40	0	0	„	„	„
1 : 80	0	0	„	„	„
1 : 160	0	0	„	„	„
1 : 320	0	0	„	„	„
1 : 640	0	0	Spuren	unvollständig	„
1 : 1280	0	0	0	0	0

Tabelle IV.
(Typhuskrankenserum, dessen Anfangsreaktion ($^1/_4$ Std.) sehr hochwertig war, dessen Endreaktion aber nur um ein geringes gestiegen war.)

	gleich	$^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	weiter 20 Std. Zimmertemp.
1 : 10	deutlich	vollständig	vollständig	vollständig
1 : 20	„	„	„	„
1 : 40	0	„	„	„
1 : 80	0	fast vollständig	fast vollständig	fast vollständig
1 : 160	0	Spuren	„ „	„ „
1 : 320	0	0	0	0
1 : 640	0	0	0	0
1 : 1280	0	0	0	0

Um dem Einwande zu begegnen, es könnten hier ungekannte Abänderungen in der Methodik der Proben für den verschiedenen Verlauf derselben die Ursache sein, so will ich bemerken, daß ich wiederholt in der Lage war — erst in der jüngsten Zeit etliche Male — einen derartig verschiedenen Ablauf der Reaktion bei Proben zu studieren, die gleichzeitig im Institut behufs Diagnosestellung einliefen. Die gleichzeitige Anstellung derartiger Proben unter Anwendung der gleichen Methodik (gleiche Mengen derselben Typhusagarkultur, genau gleiche Temperaturen, gleiche Zeiten) sichert den Resultaten derartiger Proben die Bedeutung eines exakten Experimentes. Um den Verlauf zweier gleichzeitig unter denselben Bedingungen angestellter Reaktionen mitzuteilen, habe ich in Tabelle V die beiden Reaktionen in ihrem Verlaufe einander gegenübergestellt.

Tabelle V.

	Agglutinationswert von	
	Serum A	Serum B
nach $^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	1 : 10	1 : 320
„ 2 „ Brutschranktemperatur	1 : 320	1 : 320
„ 20 „ Zimmertemperatur	1 : 640	1 : 320

Wie wir sehen, hat das erste Serum aus Tabelle V nach $^1/_4$ Stunde bei Zimmertemperatur nur in der Konzentration 1 : 10 positiv reagiert, während das zweite Serum zu dieser Zeit bereits Agglutination bis zu der Verdünnung 1 : 320 zeigte. Nur zu leicht hätte man voreilig hier zu dem Schlusse kommen können, daß Serum B einen 32mal so hohen Reaktionswert als Serum A besitze, daß, mit anderen Worten, das Resultat am Ende der Reaktion so sein werde, daß Serum A als verhältnismäßig niederwertig, Serum B als bedeutend hochwertiger agglutinierend sich erweisen werde. Der Verlauf zeigte einen überraschenden Gegensatz zu dieser eventuellen Voraussetzung: Serum B hatte nach nach $^1/_4$ Stunde bereits seinen höchsten Wert 1 : 320 erreicht, den es auch 20 Stunden nicht mehr überstieg; Serum A hingegen, dessen Reaktionswert nach $^1/_4$ Stunde nur $^1/_{32}$ des Reaktionswertes B erreichte, reagierte nach 2 Stunden Brutschranktemperatur ebenso hoch wie Serum B, nach weiteren 20 Stunden Zimmertemperatur doppelt so hoch wie Serum B. Also ein anfangs bedeutend niedriger reagierendes Serum kann höhere Endwerte erreichen als ein unter gleichen Bedingungen anfangs verhältnismäßig hoch reagierendes Serum.

Daß ein Serum nach 2 Stunden Brutschrankaufenthalt keine Agglutination zeigt, und dennoch bei weiterem Aufenthalte bei Zimmertemperatur sich als verhältnismäßig hoch reagierend erweisen kann, gehört zwar sicherlich zu den allergrößten Seltenheiten; aber gerade deswegen verdient vielleicht eine derartige langsame Reaktion Erwähnung, die ich bei einer Typhusserumprobe verfolgen konnte und in Tabelle VI wiedergebe.

Tabelle VI.

	sogleich	$^1/_4$ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemperatur	weiter 5 Std. Zimmertemp.	10 Std. Zimmertemperatur	20 Std. Zimmertemperatur
1 : 10	0	0	0 od. Spuren	deutlich	vollständig	vollständig
1 : 20	0	0	0	Spuren	fast vollständig	„
1 : 40	0	0	0	0	„ „	„
1 : 80	0	0	0	0	deutlich	„
1 : 160	0	0	0	0	Spuren	unvollständig
1 : 320	0	0	0	0	0	Spuren
1 : 640	0	0	0	0	0	0
1 : 1280	0	0	0	0	0	0

Anmerkung. Das Resultat nach 2 Stunden ließ es nach unsern sonstigen Erfahrungen für beinahe sicher erscheinen, daß hier eine negative Gruber-Widalsche Probe vorliege, und da hier wegen sehr dringlicher Verhältnisse schnellste telegraphische Antwort erwünscht war, so telegraphierten wir in diesem Sinne, mußten aber bereits am Abend die positive Typhusdiagnose telegraphisch feststellen.

Davon, daß hier sichere spezifische Typhusserumreaktion vorlag, daß also die schließliche Diagnose „Widal stark positiv“ keine Fehldiagnose war, konnte ich mich dadurch überzeugen, daß eine nach mehreren Tagen — auf mein Ersuchen — eingesandte nochmalige Blutprobe von demselben Patienten eine raschere und bedeutend höhere Reaktion zeigte.

Einen gänzlich abweichenden Verlauf, wie ich ihn weder je bei meinen Experimenten mit tierischen Immunseris, noch jemals bei diagnostischen Serumreaktionen gesehen habe, konnte ich ein einziges Mal bei einer diagnostischen Serumreaktion beobachten. Innerhalb der ersten Viertelstunde bei Zimmertemperatur war die Reaktion ziemlich deutlich bis 1 : 40 positiv geworden, so daß bereits zu dieser Zeit die Diagnose „Widal positiv“ so gut wie gesichert schien. Da zeigte es sich wunderbarerweise, daß mit dem Beginne des Brutschrankaufenthaltes die Intensität der Reaktionen in den einzelnen früher deutlich agglutinierenden Konzentrationen sich verminderte, daß zunächst diese Konzentrationen nur spurenweise Agglutination zeigten. Wenn auch innerhalb des weiteren Aufenthaltes im Brutschrank Agglutination auch in höheren Verdünnungen auftrat, so blieb sie in allen diesen Röhrchen, sowie in den bereits früher erwähnten nur spurenweise sichtbar, solange die Proben sich im Brutschrank befanden. Nach Entnahme der Proben aus dem Brutschranke wurde die Intensität der Reaktionen in allen positiven Verdünnungsröhrchen schnell wieder bedeutend stärker; Tabelle VII zeigt den anomalen Verlauf dieser Reaktion, die, wie ich betonen möchte, mit dem Serum eines sicheren Typhuskranken ausgeführt wurde.

Tabelle VII.

	sogleich	1/4 Std. Zimmertemperatur	1 Std. Brutschr.-temp.	2 Std. Brutschr.-temp.	1 Std. Zimmertemperatur	2 Std. Zimmertemperatur	20 Std. Zimmertemperatur
1 : 10	Spuren	vollständig	Spuren	Spuren	vollständig	vollständig	vollständig
1 : 20	0	fast vollst.	„	„	„	„	„
1 : 40	0	unvollst.	„	„	fast vollst.	„	„
1 : 80	0	0	0	„	unvollständig	„	„
1 : 160	0	0	0	„	Spuren	unvollständig	unvollständig
1 : 320	0	0	0	0	0	Spuren	Spuren
1 : 640	0	0	0	0	0	0	0
1 : 1280	0	0	0	0	0	0	0

Wenn auch die theoretische sowie die praktische Nutzanwendung all dieser Reihen später ausführlich behandelt werden soll, sei hier dennoch eine kurze Besprechung des Verlaufes der letzterwähnten Reaktion eingeflochten. Die meisten einfachen biologischen Reaktionen verlaufen stets stärker bei Brutschranktemperatur, und auch jede Agglutination geht schneller und intensiver vor sich, wenn man die Temperatur von 37° wählt. Hier nun findet sich die scheinbare Gesetzwidrigkeit, daß die Reaktion, die bereits bei Zimmertemperatur verhältnismäßig intensiv aufgetreten war, bei Einwirkung von Brutschranktemperatur an Deutlichkeit verliert. Wir müssen annehmen, daß gerade hier die Brutschranktemperatur einer die Agglutination hemmenden Reaktion zur Entstehung geholfen hat; welcher Natur diese Hemmung war, konnte ich leider nicht feststellen, da nur eine ganz minimale Menge von Serum zur Diagnose eingesandt worden war, und die Untersuchung des später eingesandten Serums von demselben Falle eine intensivere Reaktion ohne irgendwelche Hemmung zeitigte. Es kann hier zunächst in Frage kommen eine durch die Brutschranktemperatur angefachte, der Agglutination entgegenwirkende Bewegungsenergie der Typhusbacillen; da die Typhusbacillen aber dieselben waren, die wir stets angewendet hatten, und an denen ich niemals ein derartiges Phänomen wahrgenommen habe, so ließe sich hier ein eventueller derartig wirksamer Einfluß auf die Typhusbacillen nur damit erklären, daß hier keine intensive Bindung zwischen Bakterienrezeptoren und Serumagglutinin stattgehabt hat, so daß eben die die Bewegung anfachende Brutschranktemperatur hierdurch die agglutinierten Massen lockern konnte. Nun könnte man einwenden, daß, wenn die Bindungsfähigkeit der Rezeptoren unserer Typhusbacillen mit jenem Serum eine so geringe gewesen ist, es unverständlich wäre, daß die anfänglichen und schließlichen Agglutinationswerte so hohe gewesen sind; darauf möchte ich bemerken, daß ich auf Grund früher mitgeteilter Versuche der Meinung bin, daß die Bindungsintensität mit der Agglutinationshöhe in keiner Proportion steht. — Liegt die Ursache nicht in den Bakterien, resp. in ihrem Rezeptorenapparate, so könnten hier in zweiter Linie hemmende Substanzen im Serum in Frage kommen, die durch die Brutschranktemperatur erst in Wirkung traten; ob hier besondere Agglutinoide im Serum vorgebildet waren, die erst bei Brutschranktemperatur zur Bindung gelangten und die Bindung der Agglutinine aufhoben, oder ob andere hemmende Substanzen hier im Spiele gewesen sein können, möchte ich nicht zu entscheiden wagen. Doch möchte ich mich deshalb, weil diese Hemmung gleich nach dem Brutschrankaufenthalte allmählich aufhörte, dagegen aussprechen, daß hemmende Substanzen, die an die Bakterien verankert worden waren, mit im Spiele waren und möchte der ersten Auffassung das Wort reden, in welcher ich annehme, daß hier eine geringe Bindungsintensität der Bakterienrezeptoren mit den Agglutininen und eine durch die Brutschranktemperatur gesteigerte Bewegungsenergie der Bakterien die Ursache für die temporäre Hemmung abgegeben haben. Jedenfalls hätte eine solche Widalsche Probe in ihrem Verhalten, nur sofort nach Entnahme aus dem Brutschranke beobachtet, zu einer falschen Diagnose führen können.

Nun möchte ich als Beispiel dafür, daß ich auch öfters beim menschlichem Typhusimmunserum Hemmungszonen beobachten konnte, wie sie seit langem bei den Immunseris beobachtet worden waren, den Ausfall einer Agglutination mit einem derartigen Serum in Tabelle VIII mitteilen.

Tabelle VIII.

	sogleich	¹/₄ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	20 Std. Zimmertemperatur
1:10	0	0	Spuren	deutlich
1:20	0	0	„	„
1:40	0	0	„	„
1:80	0	Spuren	unvollständig	unvollständig
1:160	0	0	vollständig	vollständig
1:320	0	0	„	„
1:640	0	0	„	„
1:1280	0	0	unvollständig	unvollständig
1:2560	0	0	0	0

Eine Besprechung dieser Tabelle von theoretischen und praktischen Gesichtspunkten aus erfolgt im Zusammenhang mit den andern Ergebnissen dieser Arbeit weiter unten.

Tabelle IX.

	¹/₄ Std. Zimmertemperatur	2 Std. Brutschranktemp.	20 Std. Zimmertemperatur
1:10	Spuren	fast vollständig	fast vollständig
1:20	0	„ „	„ „
1:40	0	„ „	„ „
1:80	0	„ „	„ „
1:160	0	„ „	„ „
1:320	0	unvollständig	unvollständig
1:640	0	spurenweise	spurenweise
1:1280	0	0	0

Tabelle IX zeigt den ebenfalls erst später näher zu besprechenden atypischen Ausfall eines Widals, der hochwertig, aber in allen Verdünnungen unvollständig agglutinierte.

Es sei nun gestattet, die oben angeführten Versuchsreihen einer näheren Erörterung zu unterziehen. Wenn auch eine ganz eingehende Untersuchung der Struktur und der Wirkungsweise menschlicher Typhusimmunsera erst im Gange ist, so dürfte sich dennoch an der Hand der oben angeführten Versuche — die nur als Beispiele für den mannigfaltig wechselnden Verlauf der Agglutinationsreaktion gelten sollen — mancher für Theorie und Praxis wichtige Gesichtspunkt ergeben.

Vor allem fällt uns, wie ich bereits oben betont habe, auf, wie verschieden der zeitliche Verlauf der einzelnen Reaktionen sich offenbart. Bald haben wir ein Serum in der Hand, welches in allmählichem Ansteigen seinen Höhepunkt im Verlauf von 2 Stunden Brutschranktemperatur erreicht, bald kommt ein Serum zur Diagnosestellung, das gleich mit Beginn der Reaktion einen hohen oder gar seinen höchsten Agglutinationswert in rapider Schnelligkeit erlangt hat, während andere Sera so träge reagieren, daß sie erst im Verlaufe von sehr langer Zeit allmählich zu positiven Agglutinationswerten gelangen. Bemerkt habe ich bereits oben, daß alle diese Untersuchungen mit einem und demselben erprobten Stamme unter Anwendung der gleichen erprobten Methodik ausgeführt wurden.

A priori müßte man nun annehmen, daß zwei Sera, die für eine und dieselbe Bakterienkultur ein und denselben Agglutinationswert haben, auch in ihrer Reaktionszeit gegenüber ein und derselben Bakterienaufschwemmung sich gleich verhalten. Eine solche Annahme erwiese sich aber nur dann als stichhaltig, wenn wir es bei der Agglutination mit einfachen und unkomplizierten Substanzen zu tun hätten. So aber müssen wir nach meinen Untersuchungen, denen die Versuche von Kraus und Joachim nicht widersprechen, die Agglutinine als äußerst komplexe Substanzen auffassen; die einzelnen Komponenten variieren in ihrer Menge in verschiedenen Seris sowohl infolge einer verschiedenen Immunisation, als auch infolge der verschiedenen Reaktionsweise verschiedener Individuen (auch derselben Tierspecies) bei gleichartiger Immunisation. Das Gemeinsame aller dieser Komponenten, die zu einander wohl im Verhältnisse von Modifikationen stehen, ist eine spezifische bindende Gruppe, die mit allen spezifischen Agglutinogenen des Bacillenleibes eine Bindung eingehen kann; der sichtbare Effekt der Agglutinin-Agglutinogenreaktion — die Agglutination — hängt nur insofern von der Reaktion der bindenden Gruppen ab, als ohne Bindung keine Agglutination erfolgen kann; die Annahme aber, daß Bindungsintensität und Agglutinationshöhe parallel miteinander einhergehen müssen, läßt sich nach dem Ausfalle meiner Bindungsversuche mit experimentell gewonnenen Typhusimmunseris nicht mehr aufrecht erhalten. Auch die Schnelligkeit der Agglutinationsreaktion dürfte in keinem gesetzmäßigen Parallelismus mit der Bindungsavidität verlaufen, da ich ja bei Versuchen mit Tierseris nicht immer eine träger und weniger intensiv verlaufende Agglutination mit geringerer Bindungsavidität in Zusammenhang bringen konnte. Die Bindung ist nur die Grundbedingung fürs Zustandekommen der Agglutination überhaupt; die Intensität, die Höhe und der zeitliche Verlauf der Agglutination hängt meines Erachtens nur von der Beschaffenheit und den Mengenverhältnissen der verschiedenen funktionellen Komponenten im Serum einerseits und von den Agglutinogenen des Bakterienleibes andererseits ab. Ein und dieselben Agglutinogene finden in verschiedenen Seris nicht immer gleich gut für sie wirksame funktionelle Agglutiningruppen vor. Daher dürfte es sich auch erklären, daß unser Typhusbacillenstamm, mit Seris verschiedener Typhuskranker, die, sofern sie aus verschiedenen Gegenden waren, sicherlich verschiedenen Typhusstämmen ihre Krankheit verdankten, zeitlich verschiedene Reaktionen gab. Daß es aber infolge der Verschiedenheit der Agglutinine und Agglutinogene soweit kommen kann, daß ein erprobter alter gut agglutinabler Typhusstamm bei der spezifischen Agglutination mit Seris, die andere Typhusstämme spezifisch agglutinieren, versagen kann, das möchte ich dennoch bezweifeln; soweit geht die Verschiedenheit der Sera doch nicht. Ich wenigstens konnte mich überzeugen, daß in Fällen, wo unser Laboratoriumsstamm die Agglutination verweigerte, auch andere Stämme keine spezifische Agglutination zeigten. Anders ist es freilich mit frisch aus dem Tierkörper oder dem Menschen gezüchteten Stämmen; die dürfen wir für die Typhusdiagnose nicht verwerten; denn erstens können sie überhaupt inagglutinabel sein oder aber für gewisse Sera agglutinabel, für andere nicht.

Es sind das Verhältnisse, wie sie zuletzt Friedberger an einem frisch gezüchteten Stamme studiert hat. Ob die absolute oder relative Inagglutinabilität dieser frischen sehr virulenten Typhusstämme auf einer besonderen Rezeptorenbeschaffenheit beruht oder ob die Agglutinogensubstanz durch die Tierpassage und den Einfluß der Tieragglutinine innerhalb des Organismus sich geändert hat und gewissermaßen gegen die Agglutinine immunisiert worden ist oder ob auch eine vermehrte Lebensenergie der Bacillen hier mitwirkt, das sind Fragen, die zur Zeit trotz einschlägiger Untersuchungen zahlreicher Autoren (Ph. Müller, Hamburger, Walker, Cohn etc.) noch nicht mit Sicherheit sich beantworten lassen. Jedenfalls ist eines durch die Erfahrung nachgewiesen, daß alle diese betreffenden Stämme nach Umzüchtung auf künstlichen Nährböden in mehr oder minder langer Zeit — manchmal freilich erst im Verlaufe von vielen Jahren — ihre absolute oder relative Inagglutinabilität verlieren und verläßliche spezifische Reagentien für die Diagnose der betreffenden Sera werden. So haben verschiedene früher nicht gut agglutinable Stämme, die aus Frankfurt, Gießen, Wien etc. stammten, nachdem sie im Laufe der Jahre durch Umzüchtung gut agglutinabel geworden sind, sich bei spezifischen Seris stets agglutinabel gezeigt.

Wenn Falta und Noeggerath, deren Mitteilung auf der Naturforscherversammlung 1904 mir im Referate der Münchener medizinischen Wochenschrift vorliegt, ein Versagen der Agglutination bei gewissen Typhusstämmen, bei gleichzeitiger Agglutination anderer Typhusstämme beobachtet haben, so dürfte es sich um frischere Typhusstämme von nicht absolut guter Agglutinabilität gehandelt haben oder es dürfte bei den betreffenden Fällen überhaupt keine spezifische Agglutination, sondern nur eine Partialagglutination von Typhusbacillen vorgelegen haben. Diese Verhältnisse werde ich späterhin noch streifen müssen.

Ich möchte — zusammenfassend — sagen, daß der zeitlich so verschiedene Ablauf der Agglutination, wie er in den Versuchen dieser Arbeit sich zeigt, wohl im wesentlichen von den Beziehungen der funktionellen Gruppen der verschiedenen Sera zu unseren Typhusagglutinogenen abhängig war; daß die Schnelligkeit der Bindung wohl auch bis zu einem gewissen Grade die Schnelligkeit der Reaktion beeinflussen mag, läßt sich nicht leugnen, doch ist es nicht richtig, die Bindungsavidität allein verantwortlich zu machen für den Ablauf der Agglutinationsreaktion.

Daß eine lockere Bindung zwischen Rezeptoren und Agglutininen auch Anlaß geben kann zu einer auffälligen Aenderung in dem Agglutinationsverlauf, habe ich vermutungsweise in der Besprechung des atypischen Verlaufes einer Reaktion, die Tabelle VII wiedergibt, angenommen.

Es ist noch notwendig, in kurzem den Reaktionsverlauf in Tabelle VIII zu besprechen, wo uns die Hemmung in den stärkeren Konzentrationen auffällt. Solche Hemmungszonen findet man bekanntlich oft bei Immunseris, und schreibt sie jetzt allgemein der Wirkung von Agglutinoiden zu, das sind Substanzen, die, wie hauptsächlich die Arbeiten von Eisenberg und Volk sowie Wassermann zeigen, nur noch die bindende Gruppe bei Verlust der funktionellen Gruppe erhalten haben; daß es die Agglutinoide sind, die die oben erwähnten Hemmungszonen bewirken, haben Wassermann sowie Lipschütz ausgesprochen; experimentell ein Gemisch von Agglutinoiden und Agglutininen zu erzeugen, das eine Hemmungszone, analog den spontan vorkommenden, aufwies, und damit einen Beweis für die Agglutinoidnatur der hemmenden Substanzen zu liefern, ist mir in meinen bereits früher publizierten Agglutinationsversuchen gelungen.

Einen Punkt möchte ich hier noch erwähnen, und zwar, daß solche Hemmungszonen keineswegs immer von Agglutinoiden, wenn wir darunter nur Zerfallsprodukte von Agglutininen mit allein erhaltener haptophorer Gruppe verstehen, herrühren müssen. Wir können auf Grund theoretischer Erwägungen vielmehr annehmen, daß hier und da auch für einen Bakterienstamm eine Agglutinoidwirkung, durch Agglutininkomponenten erzeugt werden kann, die für einen anderen Stamm agglutinierend wirken; wissen wir doch, daß, obwohl die vorhandene funktionelle Gruppe für eine Agglutinogensubstanz nicht agglutinierend zu wirken braucht, doch die haptophore Gruppe für diese Agglutinogensubstanz bindungsfähig sein kann, also die betreffenden Agglutininkomponente für gewisse Agglutinogenmodifikationen so wirken kann, wie ein Agglutinoid. Wir müssen an eine solche freilich noch nicht bewiesene Eventualität namentlich denken, wenn wir ganz frische Sera haben, die nur für gewisse Typhusstämme — nicht für alle — eine Hemmungszone haben.

Agglutinoiden im engeren oder im eben beschriebenen weiteren Sinne des Wortes ist wohl auch die Unvollständigkeit der Agglutination in Tabelle IX zur Last zu legen und zwar muß hier wohl, weil die Agglutinationshemmung so hoch hinauf geht, eine große Agglutinoidmenge angenommen werden. Ueber die Agglutinoidwirkung auf die Gruber-Widalsche Reaktion haben Falta und Noeggerath (l. c.) auf der Naturforscherversammlung 1904 einiges mitgeteilt, worüber ich mich, da die Verhandlungen der Versammlung noch nicht vorliegen, nicht näher äußern kann.

Betrachten wir die theoretischen Ergebnisse unserer Versuchsreihen, so können wir sagen, daß sie eine Bestätigung und Ergänzung der Agglutinationsversuche mit tierischen Seris liefern.

Ich möchte nunmehr dazu übergehen, einige Punkte zu besprechen, die sich aus den bisherigen experimentellen Agglutinationsforschungen überhaupt, sowie im speziellen aus den Versuchsreihen dieser Arbeit für die praktische Verwertung der Agglutination ergeben. Für die Typhusdiagnose wird ja bekanntlich die Agglutination in zweierlei Weise nutzbar gemacht: 1) das Serum eines typhusverdächtigen Patienten, das in seiner Spezifität noch fraglich ist, wird auf seine Agglutinationsfähigkeit gegenüber einer Typhustestkultur geprüft. — 2) Ein typhusverdächtiger Bacillenbefund bei einem Typhusverdächtigen wird auf seine Agglutinabilität mit einem hochwertigen Typhusimmuntestserum geprüft. —

In beiden Fällen setzt uns der positive Ausfall der Agglutinationsprobe innerhalb gewisser Grenzen in die Lage, mit großer Bestimmtheit die Diagnose „Typhus abdominalis“ zu stellen. Ein negativer Befund wird die Diagnose fraglich machen, eventuell oft zur Stellung einer anderen Diagnose Veranlassung geben.

Da wir uns nun im klaren sind über die wichtige Verantwortung, die dem Ausfall der Agglutinationsprobe für die definitive Diagnose des Unterleibstyphus zukommt, müssen wir uns fragen, ob diese Probe wirklich soweit verläßlich ist, daß man ihr eine derartige Entscheidungsberechtigung zusprechen darf.

Von mancher Seite sind ja oft Zweifel an dem Werte der Gruber-Widalschen Reaktion erhoben worden, einerseits, weil sie angeblich in sicheren Typhusfällen versagt, andererseits, weil auch positive Reaktion bei Nichttyphusfällen vorkomme. Und auch in jüngster Zeit hört man wiederholt ein Verdammungsurteil über die Gruber-Widalsche Reaktion aussprechen. Fast muß es den Anschein haben, als ob auch ich mich auf Grund der Versuche dieser Arbeit sowohl, als auch der früher mitgeteilten Untersuchungen an experimentell gewonnenen Seris gegen eine Verläßlichkeit und Verwertbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion aussprechen müßte; konnte ich doch — analog den Resultaten von Kraus und Joachim — in meinen früheren Arbeiten eine große Variabilität in Menge und Art der Agglutinine bei den experimentell gewonnenen Typhusseris konstatieren, konnte ich ja auch in dieser Arbeit den Ablauf der Gruber-Widalschen Reaktion als sehr wechselnd feststellen. Ja man wird sogar einwenden, daß die von mir mitgeteilten Reaktionen wohl ob ihrer definitiven Höhe einen Zweifel an ihrer Typhusspezifität nicht haben aufkommen lassen, daß aber wohl die Entscheidung vielleicht sehr schwer werden dürfte, falls diese Reaktionen nicht so hochwertig gewesen wären.

Vor allem möchte ich nach den Erfahrungen, die wir bei unseren diagnostischen Agglutinationsproben gemacht haben, es als erwiesen betrachten, daß die Gruber-Widalsche Agglutinationsprobe nach wie vor das beste diagnostische Mittel für die Erkenntnis des Typhus abdominalis ist.

Meiner Meinung nach hängt die größte Zahl der beschriebenen Fehlerquellen, von der Art der Anstellung und Beurteilung des Widals ab.

Es kann zunächst vorkommen, daß der Widal gänzlich negativ ist, obzwar sicherer Typhus abdominalis vorliegt; doch kommt das erfahrungsgemäß, wenn es hier und da beobachtet wird, doch meistens nur in den ersten Tagen der Erkrankung vor; eine erneuerte Untersuchung des nach einigen Tagen neuerdings entnommenen Krankenblutes wird fast

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

stets eine Agglutinationsreaktion ergeben. Ja, in einem solchen Falle ist dann selbst eine Agglutination, die nur in den stärkeren Konzentrationen stattfindet, für Typhus in hohem Maße beweiskräftig, da sie ja erst im Verlaufe der Erkrankung als Reaktionsergebnis der gegenwärtigen Infektion entstanden ist und, da sie anfangs negativ war, nicht auf einen früher überstandenen Typhus zurückzuführen ist. Man wird also nicht unbedingt aus einem anfänglichen Versagen der Agglutinationsprobe in allen Fällen auf Nichtvorhandensein eines Typhus abdominalis schließen können, sondern, wenn die klinischen Erscheinungen verdächtig sind, die epidemiologische Wahrscheinlichkeit einer Typhuserkrankung vorliegt, die Krankheit selbst erst in den Anfangsstadien ist, wird man bei einem solchen — seltenen — Versagen der Widalschen Reaktion die Diagnose in suspenso lassen, und einen neuerlichen Serumbefund abwarten. In jenen sehr seltenen Fällen, wo die Widalsche Reaktion im ganzen Verlaufe der Krankheit negativ ist, wird eine gleichzeitige Stuhluntersuchung oft die Aetiologie von Typhusbacillen feststellen können.

Nun kommt es auch vor, daß bei typhusverdächtigen Personen die Serumprobe nur sehr niedrig agglutiniert, so daß entweder nur der Grenzwert zwischen „Widal positiv“ und „Widal negativ“ (unvollständige Agglutination von 1:40) erreicht wird oder daß die Agglutination überhaupt nur bis 1:10 oder 1:20 hinaufgeht.

Auch hier wird man sich fragen müssen, welche Zeit seit Beginn der Erkrankung verstrichen sei. Handelt es sich um Patienten, die bereits längere Zeit erkrankt sind, so wird ein Widal, der nur unter dem Grenzwert agglutiniert, mit allergrößter Wahrscheinlichkeit gegen eine Typhuserkrankung sprechen; steht der Patient am Beginne seiner Erkrankung, so tun wir gut, dem Arzte mitzuteilen, die Widalsche Reaktion spreche zwar nicht für Typhuserkrankung, es wäre aber, falls das Krankheitsbild auch weiterhin verdächtig bleibe, und falls epidemischer Typhus in der Gegend vorhanden sei, eine erneuerte Einsendung von Blut erwünscht; die Untersuchung dieser Probe wird dann im Falle, daß Typhus abdominalis vorliegt, fast unzweifelhaft eine Steigerung der Agglutinationsfähigkeit des Patientenserums erweisen. Ist der Ausfall sich an der Grenze zwischen „positiv“ und „negativ“ haltend, so werden wir auf jeden Fall auf eine erneuerte Untersuchung des Blutes dringen müssen, damit auch hier ein eventuelles Steigen der Reaktionsfähigkeit den sicheren Beweis für Typhus abdominalis bringe. Es verdient jedoch bemerkt zu werden, daß diese Fälle, wo bei sicherer Typhuserkrankung die Gruber-Widalsche Reaktion gänzlich versagt, oder wo sie so unbestimmt verläuft wie eben geschildert, doch nur äußerst selten und in sehr geringer Prozentzahl vorkommen und auch dann nur fast ausnahmslos zu Beginn der Erkrankung; es liegt daher auf der Hand, daß diese Zufälligkeiten den Wert der Gruber-Widalschen Reaktion nicht zu beeinträchtigen in der Lage sind.

Gehört zur Beurteilung aller dieser Fragen bereits eine gewisse Erfahrung auf dem Gebiete der Serumforschung, so wird es sich aus folgendem, wo wir über eine scheinbares Versagen der Agglutinationsreaktion zu sprechen haben werden, noch deutlicher ergeben, daß die Anstellung und Beurteilung der Widalschen Probe nur in den Händen von mit Serumarbeiten spezialistisch vertrauten Leuten eine wirklich sichere Typhusdiagnose gewährleistet. Ja, ich muß soweit gehen, zu behaupten, es ist besser, wenn diagnostische Agglutinationsproben gar

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

nicht angestellt werden, als wenn sie in der Hand von Nichtfachleuten zu Fehlschlüssen führen. Schon die Züchtung der Typhuskultur erfordert eine Menge Sorgfalt; der Nährboden muß verläßlich und stets gleich zubereitet sein, das Alter der Kultur muß richtig gewählt sein; auch muß stets, zur schnellen Diagnose, eine 18-stündige Typhuskultur bereits vorrätig sein und nicht erst frisch angelegt werden oder gar aus Verunreinigungen erst reingezüchtet werden. Daß die Methodik Sorgfalt und Genauigkeit erfordert, ist bereits erwähnt worden. Ob das Fickersche Diagnosticum diesen Uebelständen abhelfen kann, ist noch nicht absolut sicher bewiesen.

Wie sorgfältig die Agglutinationsprobe ausgeführt werden soll, zeigt wohl am deutlichsten der Verlauf der Reaktion in Tabelle VIII. Wären hier nur, wie es leider wahrscheinlich nur zu oft zu geschehen pflegt, nur die stärksten Serumkonzentrationen bis 1 : 80 oder gar bis 1 : 40 zur diagnostischen Agglutination verwandt worden, so wäre der Widal notwendigerweise als negativ erklärt worden, denn die spurenweise Agglutination bis zu 1 : 40 hätte den Widal keineswegs als positiv erscheinen lassen. Paltauf konstruiert theoretisch die Möglichkeit und die eventuelle Bedeutung eines solchen Falles bereits in seinem Artikel über „Agglutination" im Kolle-Wassermannschen Handbuche, und dies mit Recht, da solche Hemmungen, wie ich aus unserer Erfahrung mitteilen kann, auch bei Menschenseris nicht allzuselten vorkommen. Man kann daher mit Recht annehmen, daß so mancher Widal, der eine derartige Hemmungszone aufweist in höheren Verdünnungen, aber gut agglutiniert, in den Händen von Untersuchern, die schnelligkeits- und bequemlichkeitshalber nur die starken Konzentrationen zur Agglutinationsprobe heranziehen, negatives Resultat gegeben hat und mit Unrecht dazu beigetragen hat, den Wert der diagnostischen Agglutination zu diskreditieren und man muß sich fragen, ob nicht jene oben erwähnten seltenen Fälle von negativem Widal während des Verlaufs eines sicheren Typhus nicht auf eine derartige Fehlerquelle zurückzuführen sind.

Ich möchte deshalb dringend raten, die Widalsche Agglutinationsprobe stets von der Verdünnung 1 : 10 bis hinauf zu der Verdünnung 1 : 2000 anzulegen, denn nur so sichert man sich davor, hochwertige Agglutinationsproben, die in den starken Konzentrationen gänzlich negativ sein können, fälschlich für nicht agglutinationsfähig zu erklären, und so die sonst sichere Diagnose „Typhus abdominalis" zu verfehlen.

Auch die übrigen Verlaufsvarietäten der diagnostischen Agglutinationsproben (z. B. Tabelle VII), die ich in dieser Arbeit beispielsweise zitiert habe, bekräftigen wohl in der Annahme, daß die Gruber-Widalsche Agglutinationsprobe nicht als schablonenhafte Reaktion, wie z. B. eine Eiweißprobe, aufzufassen ist, sondern daß die Gruber-Widalsche Reaktion wohl nur in den Händen von sehr geübten Untersuchern eine wertvolle Probe sein kann, da eine ganze Reihe theoretisch möglicher Eventualitäten in praxi plötzlich auftreten und einem minder in die Serumforschung Eingeweihten scheinbar nicht zu beseitigende Fehlerquellen erschließen.

Wir kommen nun zur Beurteilung des positiven Ausfalles der Gruber-Widalschen Reaktion und da können wir sagen, daß bei gleichzeitiger fieberhafter Erkrankung eine Agglutination von 1 : 80 an in der allergrößten Zahl der Fälle die Diagnose Typhus abdominalis sichert; ja ich konnte mich überzeugen, daß eine vollständige Agglutination des Serums auch nur bis 1:40 mit allergrößter Wahrscheinlichkeit für Typhus spricht.

Nun gibt es allerdings Fälle, wo positiver Ausfall der Widalschen Probe auch bei Nichttyphuskranken vorkommt.

In erster Reihe kommt in Betracht die Agglutinationskraft, welche das Serum von Personen, die den Typhus bereits überstanden haben, mehr oder minder lange Zeit nach der Erkrankung aufweist. Nun, da wird wohl in den meisten Fällen — und dies namentlich, wenn die Krankheit lange zurückliegt — das Serum nur so minderwertig agglutinieren, daß man meistens daraus nicht ohne weiteres die Diagnose „Typhus abdominalis“ stellen wird. Man wird auch hier, falls die Anamnese keine sicheren Aufschlüsse gibt, warten, ob das Serum — wie es fast ausnahmslos bei Typhus abdominalis zu sein pflegt — eine Steigerung seines Agglutinationswertes erlangen wird. Hohe Agglutinationswerte als Zeichen überstandener Infektion finden sich nur, falls dieselbe nicht allzulange zurückliegt; und da wird fast ausschließlich die Anamnese hierüber Auskunft erteilen.

Die Richtigkeit solcher anamnestischer Angaben wird ihren Beweis dadurch finden, daß die Agglutinationswerte im Verlaufe der gegenwärtigen Erkrankung nicht steigen oder gar sinken. Ein Steigen der Agglutinationstiter im Verlaufe solcher Erkrankungen wird hingegen entweder solche anamnestische Angaben als hinfällig hinstellen müssen, oder für den Fall, daß die fragliche anamnestische Erkrankung kurz zuvor statthatte, ein Typhusrezidiv feststellen. In den meisten Fällen, wo Typhus vor länger als Jahresfrist vorlag, ist die Gruber-Widalsche Reaktion negativ.

Wenn auch die Fälle, wo bei bereits früher durchgemachter Erkrankung die Höhe des Agglutinationswertes den Widal sicher positiv hinstellen könnte, verhältnismäßig selten sind, so sehen wir andererseits doch, wie notwendig es ist, in jedem Falle die oberen Grenzwerte jeder Agglutinationsprobe festzustellen, da nur so sich ein Sinken oder Steigen der Agglutinationskraft, das ja gegen, resp. für die Diagnose einer gegenwärtigen Typhuserkrankung verwertbar ist, konstatieren läßt. Auch hier sind, wie wir sehen, die diagnostischen Agglutinationsproben Reaktionen, die nur in der Hand von Geübten bei Aufwand von Zeit und Mühe zu guten Resultaten führen.

Wir müssen nun besprechen, inwieweit das Phänomen der Mitagglutination (oder auch Partialagglutination) im stande ist, den Wert der Gruber-Widalschen Reaktion herabzusetzen.

In den meisten Fällen, wo die Agglutination von Typhusbacillen durch Krankenserum hochwertig erfolgt und dennoch echte Typhusbacillen nicht als Erreger anzuschuldigen sind, sind es Paratyphusbacillen, die ätiologisch an der Krankheit beteiligt sind und spezifisch von dem Krankenserum agglutiniert werden.

Es wird sich jedoch der Verdacht, daß eine solche Paratyphuserkrankung vorliegen kann, durch örtliche Verhältnisse, durch epidemiologische Eigentümlichkeiten der Erkrankungsformen, ferner durch gleichzeitig vorgenommene Stuhluntersuchungen, bald ergeben, und man wird wohl zu einer genauen Untersuchung des Serums schon aus wissenschaftlichen Gründen schreiten, und um den Charakter und die Aetiologie der Epidemie eventuell festzustellen. Bindungsversuche, nach Wassermann vorgenommen, werden eventuell feststellen, daß hier die Agglutination der Typhusbacillen keine spezifische war, sondern nur als Mitagglutination durch Paratyphusserum aufzufassen ist.

Es wird wohl sicher angezeigt sein, in jedem Falle, wo Paratyphus vorliegen kann, auch wenn Typhus hoch agglutiniert wird, die Agglutinationsproben, eventuell die Bindungsproben mit Paratyphus anzustellen; praktisch wird es aber in den meisten Fällen bei der ersten Blutentnahme nicht möglich sein, weil die zur Untersuchung eingesandte Blutmenge meist zu gering ist, um derlei Untersuchungen zu ermöglichen. Eine gleichzeitige Stuhluntersuchung wird eventuell schnell ein Resultat ergeben.

Paratyphus kommt jedoch nicht in allen Typhusgegenden vor, und im ganzen wird auch nicht allzuhäufig eine hohe Mitagglutination von Typhusbacillen zu der Fehldiagnose Typhus Veranlassung geben; wenn dies aber in Paratyphusfällen geschehen sollte, so ist es vom Standpunkte der Therapie und der Prophylaxe nicht als allzubedeutsam aufzufassen, da dem Paratyphus dieselben klinischen und epidemiologischen Maßnahmen entgegenzusetzen sind, wie dem echten Typhus.

Die anderen Fälle von hochwertiger Mitagglutination von Typhusbacillen, wo Paratyphus ätiologisch nicht beteiligt ist, kommen praktisch fast gar nicht in Betracht, da ihre Zahl nur äußerst gering ist. Ueberdies wird fast ausnahmslos der höchste Agglutinationswert des Serums die Spezifität des Serums sichern (Kayser, Zupnik).

Wie wir sehen, ist die Gruber-Widalsche Reaktion trotz mancher Eigentümlichkeiten und mancher Abweichungen von der Norm diagnostisch unentbehrlich, da bis jetzt noch immer die bakterizide Serumreaktion als Typhusdiagnosticum zu kompliziert ist, um allgemeine Verbreitung zu finden.

Parallel mit den Agglutinationsproben, dieselben kontrollierend und ergänzend, müssen die Stuhluntersuchungen einhergehen.

Namentlich in den freilich sehr seltenen Fällen, wo die Gruber-Widalsche Probe versagt, wird ein positiver Bacillenbefund im Stuhle die Diagnose ermöglichen.

Auch bei der Identifizierung der verdächtigen Kolonieen durch sicheres Typhusimmunserum (Testserum) wird man erstens an eine eventuelle Inagglutinabilität sicherer frischer Typhusbacillen zu denken haben; diese wird aber meistens nach Umzüchtung schwinden. Ferner wird man bei den empfohlenen Agglutinationsproben 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500 in Betracht ziehen müssen, ob ein negativer Ausfall nicht auch hin und wieder durch Agglutinoidwirkung bedingt sein kann. Partialagglutination sowie den Einfluß einer Agglutinationswirkung schließt man hier durch Anstellung von Proben mit starken Verdünnungen aus.

Wir sehen, wie kompliziert die praktisch so wichtige Serumdiagnose des Typhus abdominalis ist, und wir müssen darauf bestehen, daß im Interesse der Bekämpfung der Epidemieen diese Aufgabe nur größeren Centraluntersuchungsstationen, die zu diesem Zwecke, sowie zur Forschung auf diesen Gebieten einzurichten sind, überlassen werden darf. Denn nur große Erfahrung und große Sicherheit in der Methodik, sowie ausreichende spezielle theoretische Kenntnisse auf dem Gebiete der Serumforschung ermöglichen es, derartige Untersuchungen mit Erfolg anzustellen. Solche Untersuchungsstationen müssen mit einer verhältnismäßig großen Zahl von geübten Fachleuten ausgerüstet sein, denn erstens erfordern diese Untersuchungen viel Zeit und große Sorgfalt, und zweitens muß ärztliches Personal vorhanden sein, das an Ort und Stelle der Erkrankung Erhebungen unter Mitwirkung des Kreisarztes pflegt und für eine zweckentsprechende Entnahme des Probenmaterials sorgt.

Die Errichtung einer großen Zahl kleiner Laboratorien, die z. B. einem Kreisarzte anvertraut würden, ist als nicht zweckmäßig zu betrachten, denn erstens sind die Kosten des Betriebes im kleinen größer, zweitens ist zumeist niemand in einem derartigen Laboratorium da, der sich ausschließlich mit Ruhe und Sorgfalt diesen Untersuchungen widmen könnte und der in allen Fällen die richtigen Schlüsse aus solchen Untersuchungen zu ziehen im stande wäre.

Darum ist es meines Erachtens auch noch nicht sicher, ob das Fickersche Typhusdiagnosticum in den Händen von Nichtbakteriologen nicht die Gefahr von Fehldiagnosen mehren dürfte, da es noch nicht untersucht ist, ob es nicht in Fällen, wo die Bindung so langsam wie in von mir beschriebener Weise, bei Brutschrankeinfluß verläuft, bei Zimmertemperatur ganz versagt; und ob nicht die Agglutinoidhemmungswirkung auch bei dem Fickerschen Diagnosticum eine Fehldiagnose bewirken kann. Jedenfalls darf man noch nicht dieses Mittel als diagnostisch sicher weiteren Kreisen in die Hand geben, sondern muß nach wie vor auf eine Untersuchung und Bekämpfung der Typhuserkrankungen durch größere Centralinstitute unter bewährter Leitung dringen.

Meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer danke ich ergebenst für sein gütiges Interesse an den Ergebnissen meiner Versuche.

Königsberg i. Pr., 15. November 1904.

Literatur.

Asakawa, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV.
Bail, Archiv f. Hyg. 1902.
Cohn, Erich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. p. 61.
v. **Drigalski**, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach Robert Koch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. No. 6.)
Eisenberg u. **Volk**, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 267.)
Eisenberg, Ph., Anpassung von Bakterien an die Abwehrvorgänge des Organismus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. p. 739.)
Falta u. **Noeggerath**, Naturforscherversammlung 1904. (Ref. Münch. med. Woch. 1904 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII.)
Friedberger, E., Ueber die Agglutininreceptoren eines frisch aus dem Stuhl gezüchteten Typhusstammes. (Salkowski-Festschrift 1904.)
Hamburger, Fr., Ueber spezifische Virulenzsteigerung in vitro. (Wiener klin. Wochenschr. No. 4.)
Joos, Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine etc. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. 1903.)
Jürgens, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 34.
Kayser, H., Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 18.
Kirstein, Ueber die Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien, insbesondere von Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI.)
Köhler, Das Agglutinationsphänomen. (Klin. Jahrb. Bd. VIII. 1902.)
Kraus u. **Joachim**, Ueber Beziehungen der präzipitogenen Substanz zur agglutinogenen Substanz der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI und XXXVII. 1904.)
Lipschütz, Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis etc. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV.)
Lipstein, Deutsche med. Wochenschr. 1902.
Müller, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 2.
Paltauf, Die Agglutination; in **Kolle-Wassermanns** Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV.
Scheller, R., Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLVI. No. 3.)

Scheller, R., Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutinine. II. Immunagglutinine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLVI. No. 5.)
Walker, E. W., Immunisation against immunserum. (Journ. of path. and bacter. Vol. VIII. 1902.)
Wassermann, A., Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903.)
Zupnik, Zeitschr. f. Heilk. Bd. XII.
— —, Prag. med. Wochenschr. 1903.
(Siehe auch Literaturverzeichnisse in meinen beiden hier zitierten Arbeiten.)

Anm. während der Korrektur: Nach Einsendung der Arbeit an den Verlag, kurz vor der Vornahme der Korrektur, erschien die Arbeit von H. Kayser, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 49. p. 1803; in dieser Arbeit spricht sich H. Kayser ebenfalls auf Grund seiner Erfahrung für den diagnostischen Wert der Gruber-Widalschen Reaktion aus, betont es aber ebenfalls, daß die Agglutinationsprobe Hand in Hand gehen muß mit Züchtungsversuchen etc.

Nachdruck verboten.

Die Rothbergersche Neutralrotreaktion auf Gelatine bei 37°.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten: Professor Dr. Tavel, Bern.]

Von Dr. **Otto Heller**, Chef der Pasteurabteilung und des Pestlaboratoriums a. Institut.

Im Jahre 1898 teilte Rothberger seine Resultate mit, die er beim Studium des Einflusses der Bakterientätigkeit auf Farbstoffe erhalten hatte. Besonderes Interesse verdiente hierbei die Wirkung von Bacterium typhi und Bact. coli auf Neutralrot, da sich in der Färbung des Nährbodens mit Neutralrot ein neues differential-diagnostisches Hilfsmittel bot. Die Technik war im ganzen sehr einfach. Gewöhnlicher Agarnährboden wird bei 100° verflüssigt, mit 3—4 Tropfen konzentrierter sterilisierter wässeriger Neutralrotlösung auf 10,0 ccm Nährboden versetzt, auf 40° abgekühlt und mit 0,5 ccm 24-stündiger Bouillonkultur des zu untersuchenden Bakterienstammes versetzt. Nach einem Aufenthalt von 24 bis 48 Stunden bei 37° zeigen die Kulturen der Colistämme eine deutliche Fluoreszenz, bis allmählich eine völlige Aufhellung und Entfärbung eintritt. — Diese Neutralrotreaktion des Bacterium coli wurde von verschiedenen Seiten nachgeprüft und durchaus bestätigt (Scheffler, Köhler und Scheffler, Wolff). Von Ernest E. Irons u. a. wurde versucht, sie bei der Wasseruntersuchung praktisch zu verwerten; M. H. Gordon prüfte sie bei Differenzierung verschiedener Streptokokkenstämme. Erneutes Interesse hatte sie bei der Differentialdiagnose von Typhus und Paratyphus. — Es kann nicht wundern, daß die Methode in den Händen der verschiedenen Autoren geringe Modifikationen erfuhr. Am wichtigsten erscheint uns der Vorschlag von Oldekop, der im Bestreben, die Reaktionszeit zu verkürzen, wie übrigens alle anderen Autoren, einen Nährboden verwendete mit nur 0,3 Proz. Agargehalt (1 l Liebigs Fleischextraktbouillon, 5,0 g Kochsalz, 20,0 g Pepton, schwach alkalisch; auf 100,0 ccm Nährboden 1,0 ccm konzentrierte Neutralrotlösung und 0,15 g Traubenzucker). Mit solchem Nährboden war die Reaktion deutlich nach 24 Stunden. — Die Gründe, aus denen Rothberger seinerzeit für den Versuch vor allem Agar empfahl, waren folgende: Im festen Nährboden ist die Einwirkung des Luftsauerstoffes sehr vermindert; dieselbe ist dagegen bei der Anwendung flüssiger Nährböden, besonders bei Bouillon oder auch bei Gebrauch von Nährböden mit großer Oberfläche (Agarplatten) meist so stark, daß eine Veränderung des Farbstoffes eintritt, ehe die Reaktion durch das Bakterienwachstum genügend deutlich wird. Die Benutzung von Gelatine, die an sich wegen ihrer Durchsichtigkeit wohl in Betracht käme, zeigt nach Rothberger eine schöne Fluoreszenz. Doch geht die Reaktion zu langsam vor sich. „Entfärbung und Auskristallisierung (durch den Sauerstoff der Luft) schreiten von der Oberfläche des Nährbodens in die Tiefe fort; je länger nun die Reaktion zu ihrer Entstehung braucht, desto weiter wird die Entfärbung vorgeschritten sein, desto weniger schön wird dann die Fluoreszenz ausfallen. Außerdem dürfte in den meisten Fällen eine rasche Entscheidung erwünscht sein.“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. p. 516.)

Diese Beobachtungen veranlaßten uns, eine geringe Modifikation des Verfahrens vorzunehmen. Nach einigen ermutigenden Vorversuchen erprobten wir im Verlaufe mehrerer Versuchsreihen den Nährboden von Rothberger, von Scheffler, von Oldekop und außerdem gewöhnliche Bouillon und Gelatine, die den gleichen Farbstoffzusatz erhielten wie der Rothbergersche Neutralrotagar. Sämtliche Nährböden wurden mit einer Rindfleischbouillon mit dem gleichen Alkalinitätsgrad und denselben Sterilisierungsmaßnahmen hergestellt. Kurz vor der Impfung wurde der Agar bei 100° verflüssigt, die Gelatine bei 40°; der Agar wurde sodann auf 40° abgekühlt. Jede Eprouvette enthielt 10,00 ccm Nährboden und erhielt 4 Tropfen steriler konzentrierter, wässeriger Neutralrotlösung. (Grübler, bezogen von Merck-Darmstadt.) Hierauf wurde jedes Röhrchen mit 0,5 ccm 24-stündiger Bouillonkultur von den unten näher bezeichneten 30 Bakterienstämmen geimpft. Einen Teil derselben verdanke ich der außerordentlichen Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. v. Freudenreich (Landwirtsch. Versuchsstation Liebefeld). Fast sämtliche Stämme gehören der Coligruppe an. Es ist selbstverständlich, daß die geimpften Nährböden mit dem Impfmaterial gut vermischt wurden. Von jedem Bakterienstamm wurden also mindestens 4 Röhrchen gleichmäßig beimpft und zwar 1) 1 Rothbergers Neutralrotagar, 2) 1 Oldekop-Neutralrotagar, 3) 1 Laboratoriumsbouillon mit Neutralrot, 4) 1 Laboratoriumsgelatine mit Neutralrot. — Sämtliche Röhrchen wurden gleichzeitig in den Brutschrank (37°) verbracht. Außer den geimpften Röhrchen wurden zur Kontrolle von jedem Nährboden mit Neutralrotzusatz einige Röhrchen beigefügt, einmal um die Reduktionsfähigkeit des Nährbodens an sich festzustellen und untereinander zu vergleichen, andererseits um die Wirkung des Luftsauerstoffes zu kontrollieren. — Im Laufe der Beobachtung zeigte sich auf allen geimpften Nährböden starkes Wachstum, abgesehen von den Röhrchen mit Schweinepest, die bei dieser Temperatur und dem Gehalt von Neutralrot nur spärlich sich entwickelten. In nachfolgender Tabelle führen wir zunächst die verimpften Bakterienstämme an, in der nächsten die Intensität der Neutralrotreaktion resp. den Grad der auftretenden Fluoreszenz, so objektiv sich derselbe beurteilen läßt, nach gleicher Wachstumsdauer. Wir bezeichnen das Fehlen jeder Reaktion mit 0, angedeutete Fluoreszenz mit <, deutliche mit +, sehr ausgesprochene Fluoreszenz und höhere Grade mit ++ und +++.

Tabelle I.

1) Typhus Sahli — isoliert aus einem Typhusfall in der Sahlischen Klinik in Bern.
2) Typhus Brasilien — als Reinkultur aus Buenos Aires erhalten.
3) Bact. coli Tomarkin — aus Urin (Cystitis) isoliert.
4) „ „ Milch — aus Milch isoliert.
5) „ „ Wasser — aus Wasser isoliert.
6) Coliformes Bakterium einer Fleischvergiftung — wurde aus der Milz eines infolge einer Wurstvergiftung erkrankten und gestorbenen Mannes isoliert. Die Sektion ergab unter anderem eine starke Gastroenteritis. Das Bakterium wurde von Rekonvaleszentenserum bei 1 : 500 innerhalb einer Stunde agglutiniert. Nähere Charakteristik in einer späteren Publikation. — (Coliform, Vakuolen, Gram-negativ, Fakultativ anaërob, Wachstum bei Zimmertemperatur und bei 37°, Milch nicht geronnen, Traubenzucker vergoren, Milch- und Rohrzucker nicht, Gelatine nicht verflüssigt, Kartoffel: deutlich sichtbares Wachstum, lebhaft beweglich, Indol: negativ.)
7) Bact. typhi murium — aus der Institutssammlung.
8) Colif. Bakt. — Meningitis — isoliert aus einer Lumbalpunktionsflüssigkeit bei einer epidemisch auftretenden Meningitis.
9) Coli — Käse — aus einem geblähten Käse isoliert.
10) Coli Escherich — aus der Sammlung des Herrn Dr. v. Freudenreich.
11) Coli A — Labmagen.
12) Coli B — „
13)—16) — erklären sich durch ihre Benennung.
17)—19) — ein unbewegliches coliformes Bakterium mit starker Indalbildung, aber ohne Gasentwickelung und ohne Milchgerinnung.
20) Bact. Schafferi — aus geblähtem Käse isoliert.
26) Bact. Guillebeau A } aus fadenziehender Milch isoliert.
27) „ „ C

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß selbst bei künstlicher Beleuchtung, bei welcher eine beginnende Fluoreszenzreaktion schwieriger zu erkennen ist, mit Hilfe des gewöhnlichen Gelatinenährbodens nach einer Brutdauer von 7 Stunden ein beinahe entscheidender Schluß über die Natur eines verdächtigen Bakteriums gezogen werden kann. Während auf dem von Rothberger vorgeschriebenen Agar, abgesehen von einer Andeutung bei Colistamm 11, durchgehends noch keine Reaktion eingetreten ist, zeigt sich im Agar nach Oldekop eine ausgesprochene Ueberlegenheit, die von der Bouillonreaktion nicht erreicht, von der Reaktion in der Gelatine aber deutlich übertroffen wird. — Daß die Bouillonnährböden weniger brauchbar sind, ist schon von Rothberger u. a. festgestellt. Doch zeigen unsere Versuche deutlich, daß der Agar nach Oldekop bezüglich der Schnelligkeit und Gleichmäßigkeit der Reaktion weniger leistet wie die gewöhnliche Laboratoriumsgelatine bei 37°. Die Resultate nach 7 Stunden Brutdauer zeigen aber noch einige weitere kleine Vorteile der Gelatine. Von stark gasentwickelnden Bakterienstämmen wird der gewöhnliche Agar ganz und gar zersprengt, der Agar nach Oldekop unterliegt dieser Wirkung in geringerem Grad; dennoch zeigt auch er in mehreren Fällen eine ungleichmäßige Veränderung, die zum Teil auf die Retention der entwickelten Gasarten zurückzuführen sein dürfte. So tritt bei Stamm 13, 24, 26 in der oberen Hälfte des Nährbodens eine Entfärbung des Neutralrots ohne jede Fluoreszenz auf zum Teil unter Bildung zahlreicher Gasblasen, während nur die tieferen Schichten eine beginnende Fluoreszenzreaktion aufweisen, beim Stamm 7 betrifft die reaktionslose Entfärbung sogar den ganzen Röhrcheninhalt. Derartige Erscheinungen fehlen bei der Anwendung von Gelatine völlig. Zwar zeigt die Gelatine bei einzelnen Stämmen eine starke Aufhellung bis zur Hellgelbfärbung, dabei bleibt aber die Fluoreszenz intensiv und deutlich wahrnehmbar. — Für die Praxis bleibt natürlich dieser Gesichtspunkt von Wichtigkeit; denn in Rücksicht auf eine bequeme Beobachtung

Tabelle II.

Resultat 7 Stunden nach der Impfung (Beobachtung bei künstlichem Licht).

	Agar Rothberger	Agar Oldekop	Bouillon	Gelatine
1) Typhus Sahli	0	0	0	0
2) Typhus Brasilien	0	0	0	0
3) Coli Tomarkin	0	+	<	+
4) Coli Milch	0	<	<	+
5) Coli Wasser	0	+	<	+ +
6) Colif. Bakt. einer Fleischvergiftung	0	+	<	+
7) Bact. typhi murium	0	0 1)	<	++
8) Colif. — Meningitis	0	0	0	0
9) Coli — Käse	0	Spur	0	<
10) Coli — Escherich	0	<?	0	<?
11) Coli A — Labmagen	<?	+	<	++ 6)
12) Coli B — Labmagen	0	?	0	< 6)
13) Coli — Darm	0	+ 4)	+ 5)	+
14) Coli — Labmagen weißlich	0	<	<	++ 6)
15) Coli C — Labmagen	0	+	<	++
16) Coli — Labmagen Rütti	0	+	<	+++
17) Colif. — Leiche — Milz	0	0	0	0
18) Colif. — desgl. — Leber	0	0?	0	<
19) Colif. — desgl. — Herzblut	0	0	0	0
20) Bact. Schafferi	0	0—<	+	+ +
21) Schweinepest	0	0	0	0
22) Schweineseuche	0	0	0	0
23) Aërogenes — Liebefeld	0 2)	<?	<	+
24) Aërogenes — Král	0 2)	< 3)	<	+
25) Aërogenes — Labmagen	0 2)	<	<?	+
26) Bact. Guillebeau A	0	< 3)	<	<
27) Bact. Guillebeau C	0	<	0	<
28) Bact. lactis aërogenes	0	0 1)	0	+ 6)
29) Aërogenes a	0	+	<	+—++
30) Kontrolle	0	0	0	0

bleibt es wünschenswert, daß die Reaktion möglichst bald auftritt, aber auch möglichst lange bestehen bleibt. Daß auch dieser Forderung der Gelatinenährboden genügt, beweisen die Resultate der Tabelle III, auf, der nach 20-stündiger Brutdauer die oben erwähnten Nachteile der anderen Nährböden deutlich bleiben oder sich sogar vergrößert haben, während die Reaktion in der Gelatine gleichmäßig fortschreitet und trotz der Entfärbung bei Stamm 11, 12, 14, 28 sehr deutlich sichtbar bleibt (s. Tabelle III).

Der gleiche Versuch wurde in geringer Weise modifiziert und wiederholt. Er ergab im ganzen dasselbe Resultat. Als Impfmaterial waren dabei auf 10 ccm 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur verwendet worden. War das Impfmaterial älter (— 48 Stunden), so trat die Fluoreszenzreaktion überaus rasch ein und zwar so, daß sie nach 5-stündigem Aufenthalt im Brutschrank für Gelatine schon den Höhepunkt erreichte, nicht ganz so günstig waren die Resultate auf dem Agar nach Oldekop, obwohl nicht zu leugnen ist, daß dieser Nährboden sich im ganzen als sehr brauchbar erweist, abgesehen von den erwähnten kleinen Nach-

---

1) Ganz hell ohne Fluoreszenz.
2) Durch Gasentwickelung ist die Agarsäule ganz zersprengt.
3) Obere Schicht voller Gasblasen; hellgelb ohne Fluoreszenz.
4) In der unteren Schicht Fluoreszenz: + ; oben ganz aufgehellt, Gas.
5) Fluoreszenz nur in der tieferen Schicht.
6) Nährboden hellgelb, Fluoreszenz dabei sehr deutlich.

Tabelle III.

Resultat des Versuchs von Tabelle II nach 20 Stunden (Beobachtung bei Tageslicht).

	Agar Rothberger	Agar Oldekop	Bouillon	Gelatine
1) Typhus Sahli	0	0	0	0
2) Typhus Brasilien	0	0	0	0
3) Coli Tomarkin	0	++	++	+++
4) Coli Milch	<	+	++	++
5) Coli Wasser	<	+	++	++
6) Colif. Bakt. einer Fleischvergiftung	? — <	+	++	++
7) Bact. typhi murium	+	+ 3)	++	+++
8) Colif. — Meningitis	0	0	0	0
9) Coli — Käse	Spur	+	+	++
10) Coli — Escherich	0	++	+ — ++	++
11) Coli A — Labmagen	< — +	+	++	+++ 5)
12) Coli B — Labmagen	+	++	++	+++ 5)
13) Coli — Darm	+	+ 3)	++	++
14) Coli — Labmagen weißlich	< — +	+ 3)	++	+++ 5)
15) Coli C — Labmagen	+	++ 3)	++	+++
16) Coli — Labmagen Rütti	<	++	+	+++
17) Colif. — Leiche — Milz	0	+	Spur	++
18) Colif. — desgl. — Leber	Spur	+	0	++
19) Colif. — desgl. — Herzblut	0	< — +	<	++ — +++
20) Bact. Schafferi	+	+	+	+++
21) Schweinepest	0 1)	0	0	0
22) Schweineseuche	0 1)	0	0	0
23) Aërogenes — Liebefeld	0 2)	+	++	++
24) Aërogenes — Král	0 2)	+	++	++
25) Aërogenes — Labmagen	0 2)	+ 3)	++	++
26) Bact. Guillebeau A	0	< — + 3)	+	++
27) Bact. Guillebeau C	0 2)	+ 3)	++	+++
28) Bact. lactis aërogenes	0 2)	+	++	++ 5)
29) Aërogenes a	0	< 4)	+	++
30) Kontrolle	0	0	0	0

teilen. — Nach unseren Beobachtungen empfiehlt es sich, als maximale Impfquantität 0,5 ccm anzusehen; ist es aus äußeren Gründen wünschenswert, die Reaktion erst nach 12 Stunden zu beobachten, so muß man kleinere Quantitäten impfen. — Der Vorteil der gewöhnlichen Laboratoriumsgelatine für die Neutralrotreaktion liegt also einmal in dem schnellen Eintritt der Fluoreszenz, in der Zuverlässigkeit und Gleichmäßigkeit des Ausfalles der Reaktion, der langen Dauer derselben und im letzten Grunde darin, daß es unnötig wird, für eine beschleunigte Reaktion einen besonderen Nährboden vorrätig zu halten. Zu bemerken bleibt, daß die Farbstofflösung kurz vor der Impfung zugesetzt werden soll. —

Schon Rothberger hat festgestellt, daß die Reaktion eine Folge der Lebenstätigkeit der betreffenden Bakterien ist. Mit abgetöteten Kulturen erhielt er keine Erfolge. — Wir verwendeten in gleicher Absicht Kulturfiltrate, mit Toluol abgetötete und durch $^1/_2$-stündigen Aufenthalt bei 62° abgetötete Kulturen und erhielten nur dann eine Fluoreszenz, wenn die Kontrollimpfungen auf Agar bestätigten, daß das verimpfte Material nicht vollständig abgetötet war. —

---

1) Farbstoff zersetzt.
2) Durch Gasentwickelung Agarsäule ganz zersprengt.
3) Fluoreszenz nur in einigen Partieen des Nährbodens.
4) Hellgelb, Fluoreszenz gering.
5) Sehr aufgehellt, Fluoreszenz intensiv.

Als Resultat unserer Beobachtungen empfehlen wir, die Rothbergersche Neutralrotreaktion nicht auf Agar nach Rothberger oder auf Agar nach Oldekop anzustellen, sondern auf gewöhnlicher Laboratoriumsgelatine mit Zusatz von 4 Tropfen sterilisierter, gesättigter, wässeriger Lösung von Neutralrot im Brutschrank bei 37°, denn unter diesen Bedingungen tritt die Reaktion schnell ein (in 6 Stunden), tritt gleichmäßig und zuverlässig auf, bleibt lange bestehen und wird weder durch den Nährboden noch durch den Luftsauerstoff beeinträchtigt.

Literatur.

Rothberger, J., Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. 1898. p. 513.)

Ders., II. Mitteilung. (Ibid. Bd. XXV. 1899. p. 15 u. 69.)

Wolff, A., Zur Reduktionsfähigkeit der Bakterien. (Ibid. Bd. XXVII. 1900. p. 849.)

Ders., Die Ergebnisse der Neutralrotmethode zur Unterscheidung von Bact. typhi und coli. (Ibid. Bd. XXXI. 1902. p. 69.)

Scheffler, W., Das Neutralrot als Hilfsmittel zur Diagnose des Bacterium coli. (Ibid. Bd. XXVIII. 1900. p. 199.)

Köhler und Scheffler, Ueber die Agglutination von Fäkalbakterien bei Typhus abdominalis durch das Blutserum. (Münchn. med. Wochenschr. 1900. No. 22 u. 23.)

Kayser, H., Das Wachstum der zwischen Bacterium typhi und coli stehenden Spaltpilze auf dem v. Drigalski-Conradischen Agarboden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXI. 1902. p. 426.)

Ders., Die Bakteriologie des Paratyphus. (Ibid. Bd. XXXV. 1904. p. 154.)

Oldekop, A., Eine Modifikation des Rothberger-Schefflerschen Neutralrotnährbodens. (Ibid. Bd. XXXV. 1904. p. 120.)

Irons, Ernest E., Neutralrot bei der Wasseruntersuchung. (Ref. ibid. Bd. XXXI. Referate. 1902. p. 309.)

Gordon, M. H., Notiz über die Anwendung des Neutralrots (Rothberger) zur Differenzierung von Streptokokken. (Ibid. Bd. XXXV. 1904. p. 271.)

Hunter, W., A method of distinguishing Bacillus coli communis from Bacillus Typhosus by the use of Neutral Red. (Lancet. Vol. I. p. 618.)

Ders., Neutral Red as a means of detecting the presence of the Bacillus coli communis in Water-Supplies. (Ibid. p. 1079.)

Savage, W. S., Neutral Red in the Routine Bacteriological Examination of Water. (Journ. of Hyg. Vol. I. p. 437.)

Makgill, R. H., The Neutral Red Reaction as a Means of Detecting Bacillus coli in Water Supplies. (Journ. of Hyg. Vol. I. p. 430. Vergl. Baumgartens Jahresbericht 1901.)

Nachdruck verboten.

Das Schulersche Triumph-Isny-Filter

[Aus dem hygienischen Universitätsinstitut, Göttingen.]

Von Stabsarzt Dr. **Kaisaku Kokubo,** Japan.

Nach den günstigen Resultaten, welche mit den bekannten Berkefeld-Filtern im Kleinfiltrationsbetriebe erzielt werden, lag es nahe, ähnliche Filter, von denen eine Reihe in den letzten Jahren auf den Markt gekommen sind, einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen.

Solches ist von mir im vorigen Jahre mit dem von Schuler in Isny (Württemberg) hergestellten, sogenannten Triumphfilter geschehen. Die Versuche konnten aber erst jetzt veröffentlicht werden, da Verf. plötzlich in seine Heimat zurückgerufen wurde, ehe dieselben ganz zum Abschluß gebracht waren. Doch scheinen die gewonnenen Resultate immerhin derart, daß sie ein gewisses Urteil über den Wert des neuen Filters zu fällen gestatten.

Das Filter ähnelt in seiner äußeren Gestalt durchaus den Berkefeld-Filtern, es sind längliche, hohle Cylinder verschiedener Dicke mit einem daran gekittetem Metallkopf, der zur Befestigung des Filters in einer Hülse dient, welche ebenfalls ganz ähnlich der des Berkefeld-Filters ist. Filtriert wird von außen nach innen und auch die Reinigung ist in ähnlicher leichter Weise auszuführen, wie bei den Berkefeld-Filtern, durch Abbürsten der äußeren Schlammschicht. Die Filter können ferner an die Wasserleitung angeschraubt oder auch durch eine Handflügelpumpe von einer Leitung unabhängig gemacht werden. Die eigentlichen Kerzen sind aus einem sehr harten feinporigen Kunststeinmaterial und zwar gibt es im Handel solche, die gewöhnlich verwendet werden sollen, und noch besonders feinporige, welche gebraucht werden sollen, wenn es weniger auf eine reichliche Menge Wasser und mehr auf ein längeres Sterilbleiben des Filtrates ankommt.

Mit beiden Arten von Kerzen habe ich nun Versuche angestellt und zum Vergleiche die gebräuchlichen Berkefeld-Filter herangezogen.

Von jeder Sorte wurde ein Exemplar mit der Wasserleitung des Instituts verbunden, nachdem dasselbe vorsichtig im Dampf sterilisiert worden war. In die Filterkapsel wurde sodann vor Inbetriebsetzung je eine Bouillonkultur von Spirillum parvum, Bac. fluorescens und Bac. prodigiosus hineingeschüttet, sodann die Kapsel geschlossen und der Leitungshahn geöffnet.

Die erste Probeentnahme des Filtrats geschah nach 5 Minuten, weitere folgten sodann an demselben Tage nach 30 Minuten, 1 Stunde, 4 Stunden, 10 Stunden und endlich immer eine an den folgenden Tagen, bis der Versuch abgebrochen wurde. Das Probequantum des Filtrates betrug 4mal 20 ccm, welche immer in 4 Bouillonröhrchen aufgefangen, bei verschiedener Temperatur aufbewahrt wurden, bis sie sich trübten. Trat keine Trübung ein, so wurde nach 2 Wochen angenommen, daß das Filtrat steril gewesen sei. Die getrübten Röhrchen wurden durch Gelatine- oder Agarplatten weiter auf die in ihnen zur Entwickelung gekommenen Keimarten untersucht.

Als Testbakterien waren zunächst die kleinen Spirillen gewählt, weil diese erfahrungsgemäß besonders leicht die Filter passieren, in der Tat haben die Berkefeld-Filter sie nur einmal bis 24 Stunden zurückzuhalten vermocht, während bei den feineren Isnyfiltern erst erheblich später ein Durchtreten erfolgte. Bac. fluorescens und prodigiosus sind viel größere Spaltpilze, es war nicht wunderbar und entspricht den früher mit den Berkefeld-Filtern gemachten Erfahrungen, daß sie auch nach Tagen häufig noch nicht im Filtrat auftreten. Die Isnyfilter geben ganz ähnliche Resultate, ja scheinen auch hier öfter noch wirksamer die Zurückhaltung der Keime zu bewirken, wie aus der beigefügten Tabelle der Versuche deutlich zu ersehen ist. Da weder Bac. fluorescens noch prodigiosus sonst in der Göttinger Wasserleitung vorkommt, mußten die Keime im Filtrat von der Aussaat im unfiltrierten Wasser herrühren.

Auch auf andere als die absichtlich eingesäten Bakterien wurde bei dem Untersuchen der Filtrate geachtet; wie wiederum die Tabelle zeigt, traten solche Keime nach sehr verschieden langer Zeit im Filtrat auf. Sie sind wahrscheinlich wohl durch die Filter hindurchgewachsen, aber mit absoluter Gewißheit ist das nicht zu sagen, es wurde allerdings vor und nach jedesmaliger Wasserprobenentnahme der Auslauf besonders sterilisiert und war er besonders durch eine Glashülle gegen Verunreinigung von der Luft aus geschützt. Da aber das Wasser permanent

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

lief, kann doch wohl inzwischen durch Luftwirbel einmal ein Keim an die Oeffnung gelangt sein, sich dort festgesetzt und vermehrt haben, so daß ich mit Sicherheit nicht behaupten möchte, daß die in der Rubrik als „andere Bacillen“ vermerkten Keime immer aus dem Rohwasser hergekommen sind.

Ich ließ in allen Versuchen das Wasser permanent laufen, um derart vergleichende Schlüsse über die Ergiebigkeit der Filter nach bestimmter Zeit ihres Gebrauches machen zu können. Die gewonnenen Zahlen sind in den 4 letzten Spalten der Tabelle zu finden. Es wurde jedesmal 5 Minuten nach Anstellen eines Versuches die pro Minute auslaufende Wassermenge gemessen und auf die Stunde berechnet und dieses Verfahren dann nach mehreren Tagen noch einmal wiederholt.

Die ersten mit den Isnyfiltern angestellten Versuche ergaben recht ungenügende Resultate, sie sind in jeder Versuchsreihe der Tabelle zu Anfang angeführt und zeigen, daß mehrfach selbst Bac. prodigiosus und fluorescens in kürzester Zeit das Filter passieren (b 1—3, d 1). Eine daraufhin mit dem Fabrikanten unterhaltene Korrespondenz ließ die Vermutung auftauchen, daß Undichtigkeiten an der Verbindungsstelle zwischen Filter und Metallkopf desselben die Schuld davon sein könnten, und die weiteren Versuche, in denen nunmehr vorher diese Verbindungsstelle mit Schellack gut gedichtet worden war, bestätigten die Richtigkeit dieser Vermutung. Dieselben Filter, aufs neue sterilisiert und mit Schellack gedichtet gaben jetzt sehr befriedigende Resultate, wie Versuch b 4—5 und d 2—3 deutlich zeigen.

Bemerkenswert ist, daß anscheinend auch die Berkefeld-Filter denselben locus minoris resistentiae haben können (siehe f 1—2, g 1); denn auch hier besserte sich der Filtrationseffekt ganz bedeutend nach Verkleben des Filterkopfes mit Schellack, man wird also gut tun, der Dichtung gerade dieser Stelle ganz besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

Im übrigen will ich, was die Resultate meiner Versuche anbelangt, auf die Tabelle verweisen, wo dieselben übersichtlich zusammengestellt sind.

Hervorzuheben erscheint mir dabei die große Zeitdifferenz, die in dem Durchtreten der Bakterien bei den verschiedenen sonst ganz gleich angestellten Versuchen sich zeigten. Es bestätigt sich dadurch wohl das, was von Esmarch durch seine Versuche über das Durchwachsen von Filtern [1]) ermittelt hat, daß unsere Kleinfilter alle mehr oder weniger auch größere Poren haben, die, wenn sie miteinander zusammenhängen, auch ein rasches Durchwachsen bei sonst gut filtrierenden Filterkerzen ermöglichen. So kommt es, daß selbst die besten Filter allmählich durchwachsen werden und daß es auch bei sonst gut filtrierenden Filtern vorkommen kann, daß sie recht schnell einmal Keime durchlassen können. Aus dieser Unregelmäßigkeit in der Zusammensetzung auch unserer sichersten Kleinfilter, die technisch anscheinend noch nicht ganz beseitigt werden kann, lassen sich auch wohl die erheblichen Zeitdifferenzen erklären, die ich für das Durchwachsen der Filter in meinen Versuchen fand; sie mahnen wiederum daran, daß man auch dem besten Filter nicht unbedingt und namentlich nicht unbeschränkt lange Zeit trauen kann, namentlich wenn wirklich im Rohwasser größere Mengen von pathogenen Keimen zu erwarten sind.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXII.

Im übrigen unterscheiden sich nach meinen Versuchen die Isny-Filter von den Berkefeld-Filtern in ihrer Keime zurückhaltenden Fähigkeit anscheinend nicht bedeutend, mehrfach wurden allerdings von ersteren die verschiedenen Keime sichtlich länger zurückgehalten, dafür war aber das filtrierte Wasserquantum bei den Berkefeld-Filtern wieder ein bedeutend größeres, wie aus den letzten 4 Spalten der Tabelle deutlich hervorgeht. So scheint ein Vorteil resp. Nachteil den anderen ziemlich auszugleichen und man wird vielleicht für die Praxis empfehlen können, wenn man schnell viel Wasser gebraucht, Berkefeld-Filter zu wählen, die man dann etwas öfter wird sterilisieren müssen, während man Isny-Filtern etwas längere Filtrationszeit bis zur erneuten Sterilisation geben kann, dafür aber auch weniger Wasser erwarten darf.

Filtrierversuche mit Isny- und Berkefeld-Filtern.

	Filterart und No.	Versuch	Es fanden sich im Filtrat nach — Stunden				Es lieferte das Filter			
			Spirillum parvum	Bac. fluorescens	Prodigiosus	andere Bacillen	nach — Minuten	stündlich Filtrat in Litrn.	nach — Stunden	Stdl. Filtr. in Litern
a	Isnyfilter, gewöhnl.	1	—	nach 84 Std.	nach 96 Std.	nach 108 Std.	5	72	340	44
	„ „	2	nach 5 Min.	„ 96 „	bis 120 Std. noch nicht	„ 120 „	5	72	120	53
	„ Kopf m. Schel-	3	„ 36 Std.	bis 160 Std.	noch nicht	—	5	58	168	35
	lack gedicht.	4	„ 36 „	„ 120 „	„ „	—	5	66	120	30
b	wie a aber feineres	1	„ 5 Min.	nach 5 Min.	nach 5 Min.	nach 5 Min.	5	38	72	27
	„ Filter	2	„ 5 „	„ 5 „	„ 5 „	„ 5 „	5	30	36	25
	„ desgl.	3	„ 5 „	„ 5 „	„ 5 „	„ 5 „	5	72	96	33
	„ Kopf m. Schel-	4	„ 96 Std.	„ 96 Std.	bis 200 Std.	noch nicht	5	36	200	21
	lack gedichtet	5	„ 96 „	„ 96 „	„ 168 „	„ „	5	42	168	30
c	wie b	1	„ 5 Min.	„ 96 „	bis 288 Std.	nach 96 Std.	5	42	228	4
	„	2	„ 5 „	„ 96 „	noch nicht	„ 96 „	5	42	288	25
	„	3	„ 5 „	„ 96 „	nach 120 Std.	„ 96 „	5	33	240	15
	„ Kopf m. Schel-	4	„ 96 Std.	bis 168 Stunden noch nicht			5	35	168	25
	lack gedichtet	5	„ 96 „	„ 168	„ „	„	5	33	168	27
d	wie b	1	„ 5 Min.	nach 5 Min.	nach 5 Min.	nach 5 Min.	5	43	24	34
	„ Kopf m. Schel-	2	„ 96 Std.	bis 240 Std.	noch nicht	„ 144 Std.	5	38	240	10
	lack gedichtet	3	„ 192 „	„ 336 „	„ „	„ 192 „	5	43	336	24
e	wie b Kopf m. Schel-	1	„ 84 „	„ 192 „	„ „	„ 144 „	5	55	192	25
	lack gedichtet	2	„ 96 „	—	—	„ 36 „	5	60	216	36
f	Berkefeldfilter, größ.	1	sofort	sofort	sofort	sofort	5	300	72	168
	„	2	„	„	„	„	5	300	144	72
	„ Kopf mit	3	nach 30 Min.	bis 72 Std.	noch nicht	nach 60 Std.	5	—	—	—
	Schellack ged.	4	„ 30 „	„ 144 „	„ „	„ 60 „	5	—	—	—
g	Berkefeldfilter, klein.	1	„ 5 „	nach 5 Min.	nach 5 Min.	nach 5 Min.	5	240	100	65
	„	2	sofort	„ 4 Std.	bis 100 Std. nicht	„ 36 Std.	5	240	100	60
	„ Kopf mit Schellack ged.	3	nach 60 Min.	„ 120 „	bis 240 Std. nicht	bis 240 Std. nicht	5	108	240	20
	„ desgl.	4	„ 24 Std.	„ 120 „	nach 84 Std.	nach 120 Std.	5	144	192	49
h	wie g 1	1	„ 5 Min.	„ 10 „	nach 10 Std.		5	129	100	48
	„	2	„ 5 „	„ 10 „	„ 10 „		5	120	100	49
	wie g 3	3	„ 10 Std.	„ 96 „	bis 120 Std.	nicht	5	108	120	15
	„	4	„ 10 „	„ 86 „	„ 120 „	„	5	105	120	15
i	wie g 3	1	„ 10 „	bis 144 Std.	nach 144 Std.	nach 72 Std.	5	126	144	42
	„	2	„ 10 „	nicht	„ 144 „	„ 84 „	5	78	144	58

Nachdruck verboten.

Ein verbessertes Käfigmodell für Versuchstiere.

[Aus dem kgl. kroat.-slavon. bakteriologischen Landesinstitut
in Križevci (Kroatien).]

Von Prof. **Ferdinand Kern,** Vorstand des Institutes.

Mit 1 Figur.

Die Unterbringung der geimpften Versuchstiere verursacht oft Schwierigkeiten, besonders aber, wenn es sich um Tiere handelt, welche mit den Erregern solcher Krankheiten geimpft sind, die auch den Menschen zu infizieren im stande sind.

Bei Cholera asiatica, Bubonenpest u. dergl. bleibt nichts anderes übrig, als die Tiere, die damit geimpft sind, in Glas-, Blech- oder Gefäßen aus anderem undurchlässigen Material zu verwahren, diese aber auch zur Abwehr gegen Insekten, wie Fliegen, Flöhe u. a. entsprechend abzuschließen. Solche auf diese Art verschlossene Käfige sind aber für die Gesundheit der in sie gesperrten Tiere nicht ohne jeden nachteiligen Einfluß, erstens der vom Urin herrührenden Ausdünstungen halber und zweitens des erschwerten und verminderten Luftzutrittes wegen.

Ich habe das Problem eines Käfigs, welcher in jeder Hinsicht entspräche, wohl nicht gelöst, doch einen solchen konstruiert, welcher für Tiere, die mit für den Menschen weniger gefährlichem Material geimpft sind, besser entspricht, als die bisher gewöhnlich gebrauchten und in den Preisbüchern anempfohlenen es waren.

Die Notwendigkeit eines besseren Modelles empfand ich gelegentlich der Einrichtung des unter meiner Leitung stehenden Institutes.

Bei der Konstruierung dieses neuen Modelles wurden besonders zwei in der Praxis bereits verwendete Käfigmodelle berücksichtigt.

Das eine war das von der Firma F. & M. Lautenschläger aus Berlin bestellte kleinere Modell, welches im Preiskurant No. 60 dieser Firma unter No. 499 abgebildet und als Modell des Institutes für Infektionskrankheiten anempfohlen ist.

Der mir zugesandte Käfig unterscheidet sich von jenem, welchen das Bild im Preiskurant veranschaulicht, dadurch, daß er nicht von einem Stabgitter, sondern von einem solchen von Drahtgeflecht begrenzt ist, welches quadratische 1 cm breite Maschenlöcher besitzt.

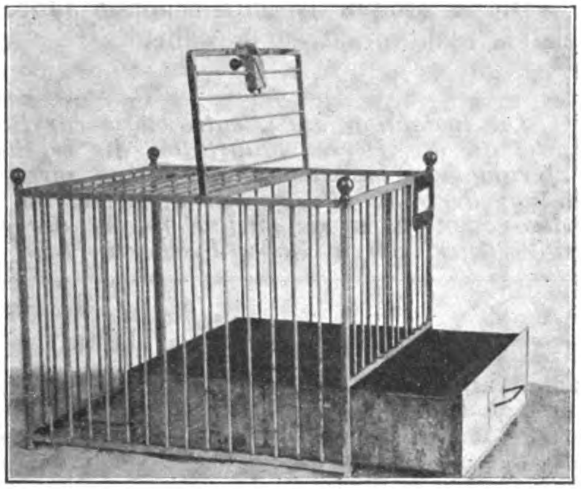
Vorteilhaft ist an dem Lautenschlägerschen Modell, daß es am Boden eine der Größe des Bodens angemessene Schublade besitzt, welche 10 cm hoch ist und zur Aufnahme der Versuchstiere dient. Diese Schublade verhindert das Zerstreuen der Exkremente der Tiere.

Doch hat dieser Käfig auch seine Nachteile. So sitzen die Tiere in ihrem eigenen Urin und auf ihren eigenen Fäkalien; die Futternäpfe können nur so aus dem Käfig herausgeholt werden, wenn man die Hand und ein gut Teil des Armes in den Käfig um sie streckt, wobei man der Gefahr ausgesetzt ist, vom Tiere verletzt zu werden, sich mit Infektionsstoff zu beschmutzen, auch kann ein agiles Tier, wie das Meerschweinchen, bei solcher Gelegenheit entwischen. Da die Futternäpfe an der Käfigwand hängen und in die Schublade hineinragen, kann letztere nur dann herausgezogen werden, wenn die Futternäpfe vorher entfernt wurden, was nicht praktisch ist. Die Futternäpfe nehmen beim kleineren

Modell verhältnismäßig viel Raum ein, da sie an der Längsseite des Käfigs hängen, so daß für Kaninchen kaum genügend Raum bleibt, um sich leicht umdrehen zu können. Zum Nachteil des Käfigs ist es auch, daß die Tür an der Seite und nicht oben angebracht ist, da in diesem Falle so lebende als auch tote Tiere schwieriger in und aus dem Käfig gebracht werden können als durch Türen, welche an der Deckenwand angebracht sind. Endlich ist das schwierige Desinfizieren des Drahtgeflechtes nicht außer acht zu lassen.

Das zweite als Muster benutzte Modell war jenes, welches im kgl. ungarischen bakteriologischen Staatsinstitute in Budapest (Prof. Preisz) benutzt wird.

Dieses ist in mancher Hinsicht besserer Konstruktion als das früher beschriebene. Es ist einfacher, leichter und hübscher gebaut, hat ein massives Gerüst von vierkantigen Eisenstangen, zwischen welchen gerade Drahtstäbe ein Gitter bilden. Die Tür ist an der Deckenseite angebracht, und über dem Boden des Käfigs befindet sich ein Drahtnetz, auf welchem sich die Tiere befinden, so daß sie nicht im Urin zu sitzen brauchen. Die Futternäpfe hängen auch hier an der Käfigwand und werden ebenfalls durch die Tür herausgenommen. Eine Schublade haben die Käfige dieses Modelles nicht, doch ist der Boden behufs Reinigung, wie dies bei Vogelkäfigen zu sein pflegt, herausziehbar.



Durch die Vereinigung der praktischen Teile dieser beiden Käfigmodelle und deren teilweise Verbesserung ist das hier zu beschreibende neue Modell entstanden.

Dieses Modell, welches aus der Abbildung ersichtlich ist, ist 480 mm lang, 400 mm breit und 360 mm hoch. Das Gerüst ist aus 1 cm breiten und ebenso dicken vierkantigen Eisenstäben gebaut, zwischen welchen 5 mm dicke, an den Seitenwänden vertikal, an der Decke horizontal stehende, gerade Drahtstäbe das Gitter bilden. Am Boden befindet sich eine eben noch in den Käfig hineinpassende 100 mm hohe Schublade, welche vorn herausgezogen werden kann. Im Innern der Schublade befinden sich am Boden einige 1 cm hohe Blöcke aus Blech, auf welchen eine dickere durchlochte Blechplatte liegt. Diese läßt alle Nässe durch, so daß die Tiere immer trocken sitzen. Sie ist dem Drahtgeflecht aus dem Grunde vorzuziehen, da sie glatter als letzteres, also den Tieren weniger unangenehm, aber dabei auch dauerhafter ist. Diese Platte kann behufs Reinigung aus der Schublade genommen werden.

Eine andere Verbesserung ist im Anbringen der Futternäpfe verwendet worden. Die Futternäpfe habe ich bei dem neuen Modelle nicht an die Wand des Käfigs, sondern an die Innenseite der vorderen Schubladenwand angebracht. Namentlich hat jeder Futternapf am oberen Rande der einen Längswand zwei nach oben sich verengernde Löcher, welche mit zwei an der Innenseite der vorderen Schubladenwand sich befindlichen Knöpfchen korrespondieren, so daß der Futternapf an letzteren aufgehängt werden kann. Will man die Tiere füttern oder den Napf gänzlich entfernen, so genügt es, die Schublade etwas (der Breite des Futternapfes entsprechend) herauszuziehen, ohne mit der Hand in den Käfig greifen, ja ohne den Käfig öffnen zu müssen.

Was die weitere Adjustierung dieser Käfige anbelangt, ließ ich dieselben mit Emaillelack bestreichen, was sich sehr gut bewährte, da dieser Lack mit der Zeit hart wie Stein wird. Sie haben ganz niedere Füße und an den vertikalen Säulen je eine kleine Messingkugel zur Zierde. Die Tür hat einen einschnappenden Verschluß, sie ist ca. 20 cm breit, so daß dieselbe bei nicht allzu niederen Käfigstellagen geöffnet werden kann, ohne den Käfig von letzterer herunternehmen zu müssen.

Ich ließ solche Käfige in der Maschinenschlosserei der hiesigen höheren landwirtschaftlichen Lehranstalt anfertigen, wo das Stück auf ca. 20 Kronen (= 17 M.) zu stehen kam.

Dieses Modell ist nun schon 3 Jahre hier im Gebrauch, wobei es sich als recht praktisch bewährte.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Castellani, Aldo, Observations on some protozoa found in human faeces, p. 66.

Doerr, R., Ueber Spirillum pyogenes Mezincescu, p. 15.

Ghon, Anton u. **Sachs, Milan,** Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. III., p. 1.

Heller, Otto, Die Rothbergersche Neutralrotreaktion auf Gelatine bei 37°, p, 117.

Jensen, Vilh., Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art?, p. 51.

Kern, Ferdinand, Ein verbessertes Käfigmodell für Versuchstiere, p. 126.

Kokubo, Kaisako, Das Schulersche Triumph-Isny-Filter, p. 122.

Konrádi, Daniel, Ist die Wut vererbbar?, p. 60.

Lüdke, H., Zur Spezifität der Antikörper, p. 81.

Markl, Ueber den Mechanismus der Abwehr des Organismus bei Infektion mit Tuberkelbacillen, p. 69.

Mori, Nello, Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie, p. 42.

Pettersson, Alfred, Ueber die Virulenz und die immunisierende Wirkung des Typhusbacillus, p. 73.

Sanfelice, Francesco, Streptothrix-Pseudotuberkulose, p. 30.

Schwarz, Carl, Ueber einen neuen, für Kaltblüter pathogenen Mikroorganismus (B. hypothermos), p. 11.

Scheller, Robert, Experimentelle Beiträge zur Theorie und Praxis der Gruber-Widalschen Agglutinationsprobe, p. 100.

Smidt, Henry, Zur Charakterisierung der Hogcholeragruppe, p. 24.

Strössner, Edmund, Typhusbacillen in dem Wasser eines Hausbrunnens, p. 19.

Vedeler, Blastomyceten im Urin, p. 54.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 2.

Nachdruck verboten.

Der Bacillus jasmino-cyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue, Farbstoff bildende Bakterien.

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut zu Straßburg i. Els.]

Von Dr. **Walter Gaehtgens.**

Die in den Faeces Typhuskranker und Typhusverdächtiger vorkommenden verschiedenen Bakterien bieten zuweilen Formen dar, die sich durch Aussehen der Kolonieen, Geruch und Farbstoffbildung von den in den normalen Darmentleerungen nachgewiesenen Mikroben wesentlich unterscheiden. Vieles spricht dafür, daß sie vielleicht in besonderen antagonistischen Beziehungen zu den Typhusbacillen stehen, und ihnen in manchen Fällen das Mißlingen des Nachweises von Eberth-Gaffkyschen Mikroorganismen zuzuschreiben ist. In der bakteriologischen Anstalt für Typhusbekämpfung zu Straßburg i. Els. wurden im Sommer 1904 zwei derartige Bakterien öfter beobachtet, deren nähere Untersuchung ich auf Herrn Prof. E. Levys Anregung vornahm.

Der erste der erwähnten Bacillen wurde zuerst von Klinger[1]) mehrere Male auf Platten bemerkt, welche von nach der Fickerschen Methode mit Koffeïnbouillon behandelten Stuhlproben ausgestrichen waren. Er war dann stets fast in Reinkultur vorhanden, und seine Gegenwart bedeutete immer ein Mißlingen des Anreicherungsversuches. Klinger fand ihn ferner im Wasser eines Baches, in welchen zahlreiche Abwässer mündeten. Ich selbst hatte 2mal Gelegenheit, ihn auf mit Malachitgrün beschickten Platten, auf denen sich Typhusbacillen gleichfalls nicht nachweisen ließen, aus den Stuhlproben Typhuskranker zu züchten.

Dieses Bakterium steht in seinen morphologischen, kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften dem Bacillus pyocyaneus sehr nahe und unterscheidet sich von diesem lediglich durch einen intensiven Jasmingeruch; es wurde deshalb von Klinger Bacillus jasmino-cyaneus genannt. Große Aehnlichkeit hat es mit dem von Reimann[2]) bei Ozaena aus Nasensekret gezüchteten Bacillus smaragdino-foetidus, mit dem es vor allen Dingen den penetranten Geruch gemeinsam hat. In einigen anderen Punkten liegen aber so auffällige Unterschiede zwischen beiden vor, daß es sich nach meiner Meinung um einen bisher noch nicht beschriebenen Mikroorganismus handelt. Nach der Beschreibung Reimanns und Matzuschitas[3]) ist die Eigenbewegung des Bacillus smaragdino-foetidus in Frage gestellt, er wächst ferner fakultativ aërob und färbt sich nach Gram. Der Bacillus jasmino-cyaneus dagegen ist ein äußerst bewegliches, kleines Stäbchen, welches nur aërob wächst und sich nach der Gramschen Methode nicht färben läßt. Das Wachstum erfolgt bei 24° C und

---

[1]) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. [Dissert.] Straßburg i. E. 1904.

[2]) Reimann, Ueber Mikroorganismen im Nasensekret bei Ozaena. [Dissert.] Würzburg 1887.

[3]) Matzuschita, Bakteriologische Diagnostik. 1902.

37° C gleich gut, nach 24 Stunden hat man schön ausgewachsene Kolonieen vor sich. Eine Sporenbildung ist nicht vorhanden, desgleichen wird Säure beim Wachstum nicht gebildet. Was nun das Wachstum auf den verschiedenen Nährböden angeht, so ließ sich darüber folgendes feststellen:

Auf Gelatineplatten bilden sich irisierende, lappige Kolonieen, welche die Gelatine stark verflüssigen und intensiv grün färben. Bei dem Gelatinestich beginnt die Verflüssigung in Trichterform, um dann in wenigen Tagen die ganze Gelatinemasse aufzulösen und grün zu färben.

Auf Agarplatten bilden sich zunächst irisierende, lappige Kolonieen, welche das Agar nach kurzer Zeit smaragdgrün färben. Die gleiche Erscheinung ist am Agarstrich sichtbar, wo sich die Kolonieen längs des Impfstriches bilden.

In Bouillon tritt eine gleichmäßige Trübung mit Grünfärbung und Häutchenbildung auf. Milch wird koaguliert und peptonisiert. Auf Kartoffeln bildet sich ein dicker, bräunlicher Belag und eine intensive Grünfärbung der Kartoffel. Blutserum wird verflüssigt und verfärbt. Neutralrotagar wird nicht reduziert, Indol wird gebildet, Lackmusmolke intensiv blau gefärbt. Gasentwickelung ist weder in Traubenzucker-, noch in Rohr- und Milchzuckerbouillon vorhanden. Alle Kulturen sind durch die Grünfärbung des Nährsubstrates und den starken, an Jasmin erinnernden Geruch charakterisiert.

Aus dem Tierversuche ergab sich schließlich die Pathogenität des Bacillus jasmino-cyaneus. Eine Maus, der $^1/_4$ ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur subkutan injiziert wurde, und ein Meerschweinchen, dem 1 ccm derselben Kultur intraperitoneal injiziert wurde, starben nach 20 Stunden. Die Sektion ergab eine heftige Peritonitis; die Bacillen ließen sich sowohl in der peritonealen Flüssigkeit als auch im Blute in großer Zahl nachweisen. Durch Abimpfung von Blut und peritonealer Flüssigkeit auf Bouillon und Gelatine erhielt ich wieder eine Reinkultur mit den charakteristischen Eigenschaften des Bakteriums.

Ferner beobachtete ich einige Male auf Drigalski-Conradischen Platten, welche mit den Faeces typhusverdächtiger Personen ausgestrichen worden waren, einen Bacillus, dessen Gegenwart gleichfalls hemmend auf das Wachstum der Typhusbacillen zu wirken scheint. Er war durch das zierliche, rosettenförmige Aussehen der Kolonieen und einen intensiven obstartigen Geruch charakterisiert. Da er ferner auf allen Nährböden einen gelben Farbstoff produziert, möchte ich ihn Bacillus flavo-aromaticus nennen, wodurch seine beiden charakteristischen Eigenschaften bezeichnet werden sollen. Ihm nahe steht der von Tataroff[1]) beschriebene Bacillus crassus aromaticus, der zwar denselben Geruch hat, aber keinen Farbstoff produziert. Außerdem bestehen in der Sporenbildung, der Färbbarkeit nach Gram und dem Wachstum in Milch, auf Kartoffeln und Blutserum so bedeutende Unterschiede zwischen beiden Bakterien, daß eine Identität beider vollkommen ausgeschlossen ist.

Der Bacillus flavo-aromaticus ist ein mittelgroßes, mäßig dickes Stäbchen, welches nur eine geringe Eigenbewegung zeigt und sich nach Gram nicht färbt. Sporenbildung erfolgt nicht. Er wächst nur aërob, sowohl bei 24° C als auch bei 37° C, in 24 Stunden erhält man gut ausgebildete Kolonieen. Auf den verschiedenen Nährböden zeigt er folgendes Verhalten:

---

1) Tataroff, Die Dorpater Wasserbakterien. [Dissert.] Dorpat 1891.

Auf der Gelatineplatte bilden sich zunächst rosettenförmige, hellgelbe Kolonieen mit etwas dunkler gefärbtem Zentrum; nach kurzer Zeit tritt Verflüssigung der Gelatine ein. Im Gelatinestich bilden sich gelb gefärbte Kolonieen längs des ganzen Stiches, die flüssig gewordene Gelatine wird durch eine derbe, gelbe Scheidewand horizontal von der noch festen Masse getrennt. Im Strich erfolgt die Verflüssigung sehr rasch, indem sich zunächst ein gelblicher Belag bildet, welcher bald hinabrutscht und sich unten als gelber Bodensatz sammelt.

Auf Agarplatten bilden sich den oben beschriebenen ähnliche rosettenförmige Kolonieen mit gelbem Zentrum. Im Agarstrich bildet sich ein dicker, gelber Belag längs des Impfstriches.

Bouillon wird gleichmäßig getrübt. Auf der Kartoffel bildet sich ein dünner, gelblicher Belag, auf dem Blutserum eine dicke, braungelbe Auflagerung, welche das Serum stark verflüssigt. Milch wird koaguliert und peptonisiert, Neutralrotagar nicht reduziert, Lackmusmolke blau gefärbt. Säure, Aceton und Indol werden nicht gebildet. In Traubenzucker-, Milchzucker- und Rohrzuckerbouillon findet keine Gärung statt. Alle Kolonieen sind durch den intensiven obstartigen Geruch und die Produktion des gelben Farbstoffes charakterisiert. Pathogene Eigenschaften ließen sich weder für Kaninchen noch für Mäuse und Meerschweinchen nachweisen. Die mit einer 24 Stunden alten Bouillonkultur injizierten Tiere zeigten keinerlei Anzeichen einer Erkrankung.

Wenn man, abgesehen von den tierpathogenen, die morphologischen und kulturellen Eigenschaften des Bacillus jasmino-cyaneus und des Bacillus flavo-aromaticus miteinander vergleicht, so ist die große Aehnlichkeit im Wachstum auf fast allen Nährböden auffallend. Außerdem sind beide durch Farbstoffbildung und einen intensiven Geruch charakterisiert. Es liegt demnach die Möglichkeit vor, daß sie zu einer Klasse von Bakterien gehören, welche für das Wachstum der Typhusbacillen in den Faeces vielleicht von Bedeutung sind.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Prof. E. Levy für die freundliche Hilfe, die er mir bei der vorliegenden Arbeit hat zuteil werden lassen, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien
(Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

III. Zur Aetiologie der Peritonitis.

I. Mitteilung.

Von Dr. **Anton Ghon** und weiland Dr. **Milan Sachs.**

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

In Bouillon mit Milchzuckerzusatz (2 Proz.) war Wachstum und Gasbildung gleich wie in Traubenzuckerbouillon, in Bouillon mit Rohrzucker (2 Proz.) hingegen spärlicher.

In Peptonwasser war das Wachstum viel spärlicher als in Bouillon. Gasbildung erfolgte nicht.

In eiweißfreien Nährböden, nach Uschinsky hergestellt, konnte Entwickelung der Bacillen nicht erzielt werden, auch dann nicht, wenn ihnen Traubenzucker, Rohrzucker oder Mannit bis zu 2 Proz. zugesetzt wurden. Dagegen erfolgte auch in Nährböden nach Uschinsky deutliches Wachstum, wenn diese 1 Proz. Pepton oder Pepton und Traubenzucker (2 Proz.) zugesetzt erhielten. Gasbildung kam dabei nicht zur Beobachtung.

In Milch erfolgte spärliche Entwickelung der Bacillen, jedoch keine Gasbildung und keine Gerinnung (Beobachtung durch 55 Tage).

In erstarrter Hydrocelenflüssigkeit entwickelten sich die Bacillen anfangs spärlich, später reichlicher, dabei erfolgte Gasbildung und langsame, aber niemals vollständige Verflüssigung, jedoch nicht immer in gleich intensiver Weise. Manchmal war die Verflüssigung bei makroskopischer Betrachtung der Kulturen überhaupt nicht erkennbar und ihr Vorhandensein nur dadurch nachzuweisen, daß der Impfstich, dem entlang deutliches Wachstum erfolgt war, eine auffallend schlüpfrige Beschaffenheit beim Eingehen mit der Oese zeigte.

In Loeffler-Serumkulturen (Züchtung in Buchnerschen Röhrchen) zeigte sich Wachstum entlang dem Impfstriche in Form mehr oder weniger zahlreicher dellenförmiger, nicht sehr tiefer Einziehungen, an deren Grunde je eine weißlich aussehende, etwa 1,5 mm im Durchmesser haltende Kolonie mit feingezähnelten Rändern lag. Der die Kolonie umgebende Nährboden war weich, fast flüssig.

Auf Kartoffeln (Züchtung unter Wasserstoffatmosphäre und im Buchnerschen Röhrchen) blieb Wachstum aus, auch dann, wenn dieselben alkalisch reagierten.

Lackmusbouillon zeigte kein Wachstum (55 Tage).

In Stärkeagarkulturen (1 Prom. Stärke), die durch Zusatz von Normalnatronlauge verschieden stark alkalisch gemacht wurden, erfolgte Wachstum, doch nahm dasselbe bei stärkerer Alkaleszenz entsprechend ab.

Der Nachweis von Indol gelang leicht in Bouillonkulturen mit Zusatz von Trauben-, Milch- oder Rohrzucker (Kaliumnitrit und Schwefelsäure oder Nitroprussidnatrium, Kalilauge und Essigsäure).

Bildung von Schwefelwasserstoff konnte in Traubenzucker-Bouillonkulturen mittels Bleiacetatpapier leicht nachgewiesen werden (langhalsige Kolben).

In Zuckeragar mit Zusatz von Neutralrot erfolgte Wachstum und Entfärbung, ebenso in Agar, dem indigoschwefelsaures Natrium (1 Prom.) zugesetzt wurde. Die Entfärbung trat in beiden Nährböden ziemlich rasch ein.

Die chemische Untersuchung einer 5 Tage alten Kultur in Traubenzucker ergab:

Saure Reaktion der Flüssigkeit, Anwesenheit von Aethylalkohol, Indol und Milchsäure, sowie Spuren von Essigsäure. Buttersäure war nicht nachweisbar.

Die Kulturen, besonders die stark eiweißhaltigen, verbreiteten einen nicht sehr intensiven, fauligen Geruch.

Das Wachstum des Bacillus erfolgte nur bei höheren Temperaturen (Brüttemperatur). Unter 22—24° C konnten wir Entwickelung niemals beobachten, bei Temperaturen zwischen 27—28° C trat

Wachstum ein, doch blieb es an Ueppigkeit gegenüber dem bei Brüttemperatur etwas zurück.

Die Empfindlichkeit des Bacillus gegenüber Sauerstoffzutritt war eine große, ein Umstand, der der Kultivierung des Bakteriums viel Schwierigkeiten bereitete.

Die Resistenz des Bacillus in den Kulturen war im allgemeinen eine recht geringe, namentlich in den ersten Generationen. Schon 6 bis 8 Tage alte Kulturen erwiesen sich dann häufig als nicht mehr überimpfbar. In den späteren Generationen hielten sich die Kulturen sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Brütofen länger, so daß es manchmal noch möglich war, 4—5 Wochen alte Kulturen mit Erfolg zu überimpfen. Noch längere Zeit hielten sich die Zuckeragarkulturen, jedoch nur dann, wenn sie, vor Austrocknung geschützt, bei 37° gehalten wurden. Auf diese Weise gelang es uns, Kulturen ca. 150 Tage und länger lebensfähig zu erhalten.

Tierversuche ergaben keine Resultate. Subkutane Impfungen bei weißen Mäusen und Meerschweinchen bis zu 2 ccm 48-stündiger Zuckerbouillonkulturen erzeugten außer geringen Infiltraten, die zurückgingen, keine Veränderungen. Intraperitoneale Injektionen in denselben Mengen blieben gleichfalls ohne Reaktion. Für die Versuche wurden im ganzen 6 weiße Mäuse und 4 Meerschweinchen verwendet.

* * *

Wir konnten also in dem Exsudat einer zirkumskripten, akut eiterigen Peritonitis im Anschlusse an ein zerfallenes und verjauchtes Magencarcinom mikroskopisch und kulturell ausschließlich und reichlichst eine Bakterienart nachweisen, die den anaëroben Bacillen zugehört. Der Umstand, daß andere Bakterien völlig fehlten und daß auch eine andere Ursache für die Peritonitis nicht gefunden wurde, scheint uns mit Bestimmtheit dafür zu sprechen, daß der gefundene Bacillus die Ursache der Bauchfellentzündung darstellte. Gegen diese Annahme spricht auch nicht die Tatsache, daß der gezüchtete Bacillus als ein sicher ungewöhnlicher Erreger der akut eiterigen Peritonitis anzusehen ist, ebensowenig der Umstand, daß der Bacillus in den ausgeführten Tierexperimenten so gut wie keine Pathogenität erkennen ließ. Die Forderung, daß ein Bakterium, soll es die Ursache einer Erkrankung darstellen, die gleiche Krankheit auch bei unseren Versuchstieren erzeugen müsse, ist heute in diesem Sinne nicht aufrecht zu erhalten. Wir kennen schon viele exquisit menschenpathogene Keime, die für unsere gebräuchlichen Versuchstiere fast gar keine oder nur geringe pathogene Wirkung zeigen. Außerdem ist aber gerade für unseren Fall noch hervorzuheben, daß die Experimente nicht mit den allerersten Generationen ausgeführt werden konnten, daß also möglicherweise eine stärkere Virulenz unseren Versuchstieren gegenüber ganz gut noch in den ursprünglichen Kulturen vorhanden war.

Unterstützt wird die Auffassung von der ätiologischen Bedeutung des gezüchteten Bacillus für die Peritonitis aber zweifelsohne durch die Tatsache, daß wir in den Schnittpräparaten vom Magen-Lebertumor und einer krebsig entarteten regionären Lymphdrüse der großen Magenkurvatur sowie in denen mehrerer Lungenabscesse anscheinend ausschließlich eine Bacillenart nachweisen konnten, die ihrem morphologischen und färberischen Verhalten nach völlig mit den im peritonealen Exsudate gefundenen Bacillen übereinstimmt. Und gerade auch in den

Schnittpräparaten mußten die gefundenen Bacillen gleich denen im Peritonealexsudate nach ihrem Verhalten zu den Gewebselementen als im Zusammenhange stehend mit den erkennbaren entzündlichen Veränderungen angesehen werden. Leider war dieser interessante bakteriologische Befund des Peritonealexsudates ein unerwarteter, so daß die Kultivierung des Bacillus aus den Lungenabscessen nicht mehr durchgeführt werden konnte.

Die Peritonitis ist als eine sekundäre zu bezeichnen und als ihr Ausgangspunkt der zerfallene Magentumor anzusehen. Dafür spricht vor allem die Lokalisation der Peritonitis: ihre Ausbreitung über die vordere Magenfläche bezw. den Bereich des auf die Leber übergreifenden Magentumors. Da eine akute Perforation des verjauchten Tumors in die freie Bauchhöhle nicht nachweisbar war, muß die zirkumskripte Bauchfellentzündung als eine vom zerfallenen und infizierten Tumor aus fortgeleitete aufgefaßt werden. Es mag dabei dahingestellt bleiben, an welcher Stelle der Uebertritt der Bacillen, welche die Peritonitis verursachten, erfolgt war.

Die Infektion des Magentumors war endogen entstanden, also vom Magen selbst aus. Die Gelegenheit zu solchen Infektionen ist gerade bei Magencarcinomen im allgemeinen oft gegeben, da die Reaktion des Magensaftes bei Carcinom, ferner Gewebszerfall und Blutungen des Tumors der Ansiedelung und Vermehrung pathogener Keime Vorschub leisten.

Die Lungenabscesse waren ihrem pathologisch-anatomischen Bilde nach typische, metastatische Abscesse. Da nur die Lungen den Sitz dieser Abscesse bildeten, erfolgte die Verschleppung des infektiösen Materials wohl auf venösem Wege. Mit dieser Annahme stehen auch die histologischen Bilder der Lungenabscesse in Einklang. Wahrscheinlich dürfte der Einbruch in die Blutbahn in der Leber stattgefunden haben, weil es uns scheint, daß gerade in der Leber infolge der zahlreichen großen, völlig verjauchten Tumorknoten dazu am meisten Gelegenheit gegeben war.

Das Exsudat der Peritonitis und der Lungenabscesse wie auch das Sekret der zerfallenen Tumormassen verbreiteten einen stinkenden Geruch, der — wie aus den von uns studierten Eigenschaften des gefundenen Bacillus hervorgeht — durch seine Fähigkeit, Eiweiß zu zersetzen, bedingt war.

* * *

Es erübrigt uns noch, die Stellung des gefundenen anaëroben Bacillus im Bakteriensystem zu erörtern.

In der Literatur über die anaëroben Bakterien fanden wir keinen Bacillus, mit dem der von uns gezüchtete mit Sicherheit identifiziert werden kann.

Vom Bacillus ramosus [Veillon und Zuber[1])], der gleichfalls ein unbewegliches, streng anaërobes, nur bei 37° C wachsendes Bakterium darstellt, unterscheidet sich unser Bacillus dadurch, daß er gleichmäßig Gram-negativ ist, während jener nach der Methode von Gram gefärbt bleibt. Dazu ist der Bacillus ramosus durch große

---

1) Rist, E., Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchung gangränöser und fötider Eiterungen. (Centralblatt f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.)

Lebensfähigkeit und durch seine Pathogenität für Meerschweinchen und Kaninchen ausgezeichnet.

Der Bacillus fragilis (Veillon und Zuber) stellt ein unbewegliches, Gram-negatives Stäbchen dar, schwer züchtbar und von geringer Lebensfähigkeit. Der Bacillus bildet spärlich Gas, verflüssigt Gelatine nicht, zeigt keine Sporen und produziert in den Kulturen einen stinkenden Geruch. Doch läßt der Bacillus fragilis Versuchstieren gegenüber ziemlich bedeutende Pathogenität erkennen und scheinbar sowohl im Eiter wie in den Kulturen einen größeren Formenreichtum vermissen.

Der Bacillus fusiformis (Veillon und Zuber) wird als ein großes, spindelförmiges Stäbchen beschrieben, das durch die Größe seiner Formen und durch sein rasches Wachstum sich von unserem Bacillus leicht unterscheiden läßt.

Der Bacillus furcosus (Veillon und Zuber) ist schon durch die Eigentümlichkeiten seiner Formen von unserem Bacillus abtrennbar und der Bacillus nebulosus (J. Hallé) dadurch, daß er kein Gas bildet.

Am ehesten ist unser Bacillus dem Bacillus funduliformis (J. Hallé) ähnlich. Dieses Bakterium wird von Rist als ein kleines gekrümmtes Stäbchen beschrieben, das sich durch Anilinfarben wenig tingieren läßt und bei der Methode von Gram entfärbt. In Reinkulturen ist der Bacillus sehr polymorph, die „einzelnen Glieder verlängern und krümmen sich, tragen an beiden Enden dicke, vielförmige Anschwellungen oder drücken sich zu dicken, unregelmäßigen Kugeln". Daneben findet man Fäden, die sich manchmal reich verzweigen, und kurze „bacilläre Glieder". Der Bacillus wächst nicht unter 37 ° C, dabei langsam, bildet sehr übelriechendes Gas und ist für Meerschweinchen und Kaninchen nicht konstant pathogen: manchmal gelang es, Abscesse gangränöser Natur zu erzeugen, die entweder spontan ausheilten oder das Tier rasch zu Fall brachten.

Wir müssen es dahingestellt sein lassen, ob die Identität unseres Bacillus mit dem von Hallé gefundenen Bacillus fundiliformis anzuerkennen sei oder nicht. Da dieser Bacillus bei gangränösen oder fötiden Prozessen des Menschen allem Anscheine nach wiederholt gefunden wurde, hätte es zweifellos großes wissenschaftliches und vielleicht auch praktisches Interesse, sollte es sich durch weitere Untersuchungen herausstellen, daß dieses Bakterium des öfteren bei gewissen pathologischen Prozessen des Menschen zu finden sei.

Es seien deshalb die Merkmale, die den von uns gezüchteten Bacillus kennzeichnen, nochmals kurz hervorgehoben:

Kleine, Gram-negative Bacillen, unbeweglich und ohne Sporen, im allgemeinen schlecht färbbar und sehr polymorph. Wachstum nur bei höheren Temperaturen. Spärliche Gasbildung. Keine Verflüssigung der Gelatine. Kein Wachstum in eiweißfreien Nährböden. Keine Gerinnung der Milch. Langsame Verflüssigung erstarrten Serumeiweißes. Bildung von Indol und Schwefelwasserstoff. Entfärbung von Neutralrot und indigoschwefelsaurem Natrium. Bildung von Aethylalkohol, Milchsäure sowie geringer Mengen von Essigsäure. Nicht sehr intensiver, stinkender Geruch der Kulturen. Geringe Pathogenität für die gebräuchlichen Versuchstiere.

Der Bacillus ist im Besitze der Bakteriensammlung von F. Král in Prag.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Tafelerklärung.

Fig. I. Deckglaspräparat vom peritonitischen Exsudat. Färbung nach Gram mit Fuchsinnachfärbung.

Fig. II. Schnittpräparat aus dem Magen-Lebertumor. Grenzpartieen mit intra- und extracellulären Bakterienhaufen. Färbung mit Boraxmethylenblau.

Fig. III. Deckglaspräparat von einer Zuckeragar-Plattenkultur (Klatschpräparat), 3 Tage alt (Wasserstoffatmosphäre). Färbung nach Gram mit Fuchsinnachfärbung.

Fig. IV. Deckglaspräparat von einer Kultur auf erstarrtem Loeffler-Serum (Buchner-Rohr), 49 Tage alt (bei 37° C), 75. Generation des Bacillus. Färbung mit Boraxmethylenblau. Schmale Fäden und degenerierte Formen.

Fig. V. Deckglaspräparat von einer 10-tägigen Kultur im Traubenzuckeragar mit Zusatz von Neutralrot, 7. Generation. Jodpräparat. Degenerationsformen, teilweise mit intensiver Braunfärbung.

Alle Abbildungen wurden aufgenommen mit Zeiss, homogene Immersion, 2,0 mm, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Nachdruck verboten.

Kultur- und Tierversuche mit dem Bacillus fusiformis und dem Spirillum.

[Mitteilung aus dem pathol.-anat. Institute der Königl. Universität zu Kolozsvár (Direktor: Prof. Dr. Buday).]

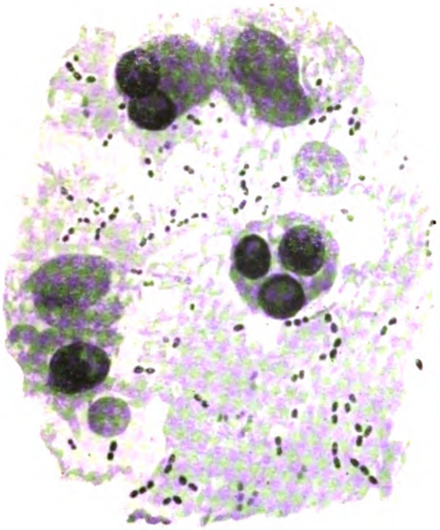
Von Dr. **D. Veszprémi**, Privatdozent, I. Assistent.

Prof. Buday sezierte am 3. September 1904 die Leiche eines 53 Jahre alten Mannes von der chirurgischen Klinik, der wegen eiteriger Periostitis des rechten Oberkiefers aufgenommen wurde. Dieser Fall liefert vielen interessanten Stoff zu einer eingehenden Bearbeitung, jetzt wollen wir nur kurz hervorheben, daß bei der Sektion außer einer gegen die Schädelbasis hin sich ausbreitenden eiterigen Periostitis, eine in den rechten Musculus temporalis eindringende Phlegmone, eine hämorrhagisch-eiterige Entzündung der Gehirnhäute, und in der Lunge metastatische Abscesse zu finden waren. Wir fanden in dem Eiter der Mundhöhle als auch in dem der metastatischen Herde kleine körnchenförmige Gebilde, die zum Teil aus dem Bacillus fusiformis und aus Spirillen bestanden. Das gleichzeitige Vorhandensein der Bakterien in so ungewöhnlich großer Menge hatte uns dazu bewogen, etliche Kaninchen mit dem Materiale zu impfen und die Reinzüchtung derselben auf den gebräuchlichen Nährböden zu versuchen. Die Kulturversuche blieben ohne Erfolg. Hingegen gelang es uns, bei den Kaninchen eine Infektion hervorzurufen. Es ging nämlich eins der Kaninchen an eiteriger Peritonitis zu Grunde. Das Exsudat war von sehr unangenehmem Geruch, und enthielt außer einer Art von fädenförmigen Bakterien und Kokken eine große Anzahl fusiformer Bacillen und Spirillen. Bei allen subkutan geimpften Kaninchen entwickelten sich binnen weniger Tage gangränöse Abscesse von penetrantem Geruch, die den Tod der Tiere zur Folge hatten. In dem Absceßeiter fanden sich in großer Zahl auch fusiforme Bacillen und Spirillen vor. Mit dem Eiter dieser Abscesse infizierten wir eine weitere Tierreihe mit ganz demselben Erfolge.

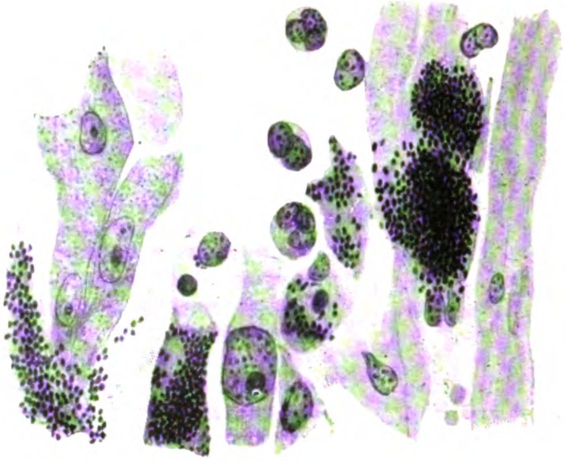
Aus dem am 23. Oktober geöffneten gangränösen Abscesse eines der II. Versuchsreihe angehörigen Kaninchens versuchten wir auf den

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

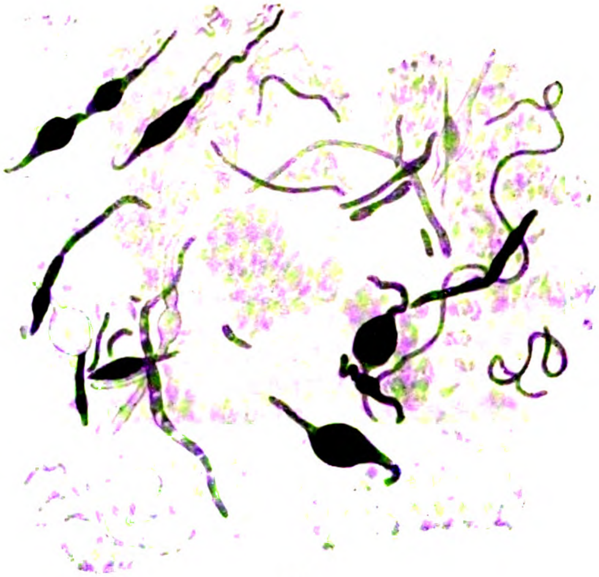
Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. ***Ghon** u. **Sachs,** Anaërobe Bakterien.*



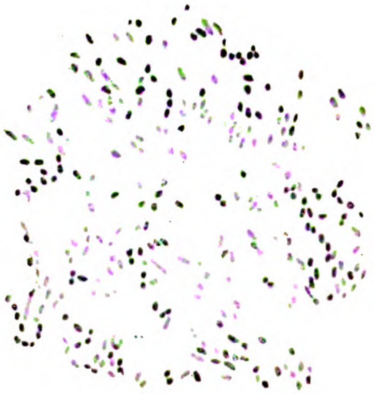
I.



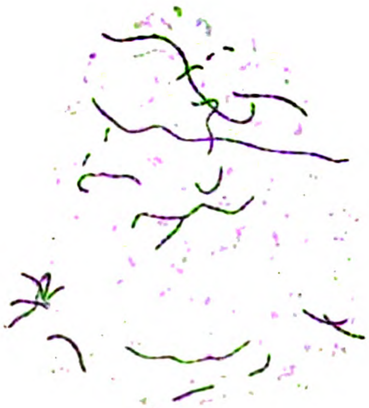
II.



V.



III.



IV.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

künstlichen Nährboden wiederholt die Züchtung. Jetzt benutzten wir aber zu diesem Zwecke Nährböden verschiedener Zusammensetzung, unter anderem das Gemisch von Liquor pericardii + Bouillon, Kaninchenserum + Liquor pericardii, Kaninchenserum + Bouillon etc. Die Kulturen zeigten schon binnen 24—48 Stunden Anzeichen des Gedeihens, unter denen hauptsächlich der außerordentlich unangenehme, mehr oder weniger an Gangrän oder dysenterischen Darminhalt erinnernde Geruch hervorzuheben ist. Die Kulturen zeigen eine eigentümliche Art der Entwickelung, so z. B. entstehen in den Kaninchenserum enthaltenden Nährböden am Boden oder an der Wand der Eprouvette haftende Körner, in anderen Nährböden wiederum bildete sich ein reichliches, körnig-flockiges Sediment. In den Deckglaspräparaten waren am Anfange große Mengen fusiformer Bacillen zu finden, später zeigten sich in großer Zahl auch fadenförmige Bakterien und Spirillen. Die Kulturen entwickeln sich auch jetzt noch durch mehrere Generationen.

Um uns von der pathogenen Wirkung der Bakterien zu überzeugen, impften wir mit denselben subkutan, beziehungsweise intramuskulär zu wiederholten Malen Kaninchen. Der Erfolg zeigte sich auch bei diesen in den binnen kurzer oder längerer Zeit entstandenen stinkenden, gangränösen Abscessen und der Prozeß führte, mit einer starken Abmagerung der Tiere einhergehend, zum Tode. Der Bakteriengehalt ist der nämliche wie bei den von der Leiche infizierten Tieren. Auch von diesen Abscessen gelang es, dieselben Bakterien zu züchten.

Obzwar unsere Versuche betreffs der Tierversuche und Züchtung ziemlich zahlreich sind, halten wir es trotzdem bei dieser Gelegenheit noch für verfrüht, dieselben und deren Resultate bekanntzugeben. Wir wollen noch darauf hinweisen, daß, soweit wir bis jetzt die Literatur überblicken konnten, unseres Wissens experimentelle Versuche mit diesen Bakteriengattungen nur in relativ geringer Zahl stattfanden und auch hinsichtlich des Resultates nicht ganz befriedigend sind. Es sind nämlich die Beziehungen der häufiger erwähnten Bakterien zu einander, deren Entwickelungsgang, biologische Eigenschaften, Formeigentümlichkeiten u. s. w. noch in vieler Beziehung streitig. Auch bedarf deren pathogene Wirkung — obzwar diesbezüglich besonders im menschlichen Organismus eingehende Untersuchungen nicht fehlen — von einem ganz anderen Standpunkte aus einer Erläuterung. Auch unsere Versuche haben noch — bevor dieselben Gegenstand einer detaillierten Erörterung bilden — von etlichen Seiten eine Ergänzung nötig; so z. B. sind dieselben noch mit den histologischen Untersuchungen zu vervollständigen, aber so viel kann bereits aus dem Gesagten geschlossen werden, daß sowohl der Bac. fusiformis wie das Spirillum von Menschen auf Tiere zu impfen sind, in denselben den nämlichen pathologischen Prozeß hervorrufen, auf künstlichen Nährböden züchtbar sind, in den Kulturen ihre Virulenz so weit behalten, daß es auch bei mit Kulturen infizierten Tieren zur Entwickelung gangränöser Abscesse kommt.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über Anaërobiose.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Sassari.]

II. Mitteilung.

Von Prof. **Claudio Fermi** unter Mitwirkung von **E. Bassu,** stud.

Mit 13 Figuren.

In der ersten Mitteilung[1]) haben wir die Kritik von verschiedenen bekannten Methoden der Anaërobiose durchgenommen und auf experimentellem Wege bewiesen, wie in allen diesen, ohne Ausnahme, stets deutlich das O^2 nachgewiesen werden kann. Da nun besagte Methoden zur Lösung der in Bezug auf die Anaërobiose aufgeworfenen Fragen untauglich waren, versuchten wir, neue Methoden auszuarbeiten, welche es uns möglich machen sollten, die Anaëroben in Abwesenheit des mit Hilfe delikater Mittel nachweisbaren O^2 zu kultivieren.

Wir begannen daher unsere Untersuchungen mit einer Reihe präliminärer Forschungen, wie z. B.:

1) Ueber die Entfernung des O^2 mittels Aufkochung.

2) Ueber den verschiedenen Widerstand, den die verschiedenen Substrate (Agar, Gelatine, Fleischbrühe u. s. w.) beim Ausscheiden des Sauerstoffs durch Aufkochen leisten.

3) Ueber die Wirksamkeit der verschiedenen luftdichten Substanzen, wie z. B. Vaselin, Paraffin, Paraffinöl u. s. w., zum Schutze des Substrates während und nach dem Aufkochen.

4) Ueber die Wirkung des Umkehrens der Kulturen direkt in Kali pyrog., welches gleichzeitig als absorbierendes Mittel des O^2 als Schutzschicht gegen die äußere Luft diente.

5) Ueber die Wirksamkeit des dem Substrat beigefügten Kali pyrog. bei der Absorbierung des O^2.

In dieser unserer zweiten Arbeit setzen wir ferner die Beschreibung verschiedener anderer neuer Methoden und Verfahren fort und werden zahlreiche, von uns mit denselben vorgenommene Versuche anführen.

Um soviel wie möglich das Durchdringen des Sauerstoffs in das Substrat durch die Schutzsubstanz hindurch zu verhindern, sind wir folgendermaßen zu Werke gegangen:

Methode I. Nach Vertreibung des Sauerstoffs aus dem Substrat mittels Aufkochens, unterstützt durch $^1/_2$ ccm Paraffin, gossen wir auf letzteres, sobald es geronnen war, anderes Paraffin und sodann eine Lösung von Kali pyrog. (Fig. 1) bis 2 cm vom Rande der Eprouvette. Diese wurde mit Paraffin verschlossen und die Kulturröhren wurden umgekehrt, um das Durchdringen des Kali pyrog. durch das Paraffin in das Substrat zu verhindern.

Als Anzeiger des Sauerstoffs im Substrate bedienten wir uns des Kali pyrog. selbst. Kontrollversuche wurden vorgenommen.

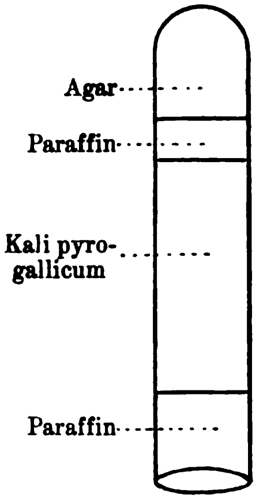


Fig. 1.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. No. 5.

Resultat: Der Schwärzungsgrad des Kali pyrog. im Substrat im Augenblick des Versuches blieb unverändert selbst nach einem Monat, während er in den Kontrollversuchen zunahm. Demnach wurde das Durchdringen des Sauerstoffs verhindert.

* * *

Methode II. Um die Kultur immer mehr gegen die Möglichkeit des Durchdringens von Sauerstoff zu sichern, haben wir einige Versuche zur Vertreibung des O^2 durch Aufkochen, unterstützt durch Paraffin, durch eine Schicht von Kali pyrogallicum und einer zweiten Paraffinschicht, dann Eintauchen der Eprouvette in Paraffin- oder Olivenöl gemacht.

Wir experimentierten mit Wasser und mit Oel, indem wir verschiedene, eine gleiche Menge von Kali pyrog. enthaltende Eprouvetten in diese Flüssigkeiten tauchten. Die Eprouvetten wurden mit Gummi- oder mit Korkstöpseln verschlossen, um den Unterschied dieser beiden Verschlußsysteme zu beobachten.

Resultat: Das Kali pyrog. hatte, sogar noch nach zwei Monaten, dieselbe Farbe bewahrt, die es zur Zeit des Versuches hatte. Das beste Verschlußsystem bildeten die Gummistöpsel und die Immersion mit Oel.

Aus den Resultaten der vorgenommenen Versuche haben wir folgende „neue Methode“ (siehe Fig. 2) feststellen können:

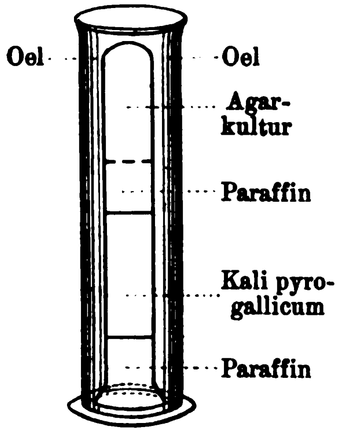


Fig. 2.

1) Aufkochen des (2-proz.) glykosierten, mit einer Paraffinschicht von $^1/_2$ ccm bedeckten Substrats in Vaselin bei 105° C.

2) Aufkochen während weiterer 5 Minuten.

3) Schnelle Abkühlung und Impfung durch das noch nicht fest gewordene Paraffin, zu welchem noch anderes Paraffin hinzugefügt wurde, um eine Schutzschicht von 3 ccm zu erlangen.

4) Kali pyrog.-Lösung bis 2 cm vom Rande der Eprouvette und dem Verschluß mit Paraffin.

5) Immersion der umgekehrten Eprouvette in einem mit Oel gefüllten Cylinder.

Der folgende Versuch zeigt uns, daß mit dieser neuen Methode eine gute Anaërobiose erlangt wird:

Der Versuch gründete sich auf die Tatsache, daß, wenn dem glycerinierten Agar der verschiedenen Röhrchen 2 Proz. Traubenzucker oder ein wenig Methylenblau in Substanz (Sanfelice) oder in einer konzentrierten alkoholischen Lösung dieses Stoffes (Kabrhel) zugefügt wird und die Röhrchen im Ofen sterilisiert wurden, sich diese beim Herauskommen aus demselben ungefärbt zeigen, weil der Agar den Sauerstoff, den er aufgelöst hatte, verloren hat, während sie sich an der Luft von der Oberfläche nach dem Boden zu, sobald neuer Sauerstoff sich löst, wieder färben.

Wir schützten einige dieser Röhrchen und ließen andere für die Kontrolle bestimmte entweder ganz geöffnet oder schützten den Agar durch eine Paraffinschicht.

Bei den verschiedenen Beobachtungen erzielten wir folgendes Resultat: Die unbedeckten Röhrchen begannen sich gleich nach Beendigung des Versuches zu färben, während der Agar in den nur durch Paraffin geschützten Röhrchen fast farblos, der nach unserer neuen Methode behandelte aber vollständig farblos blieb, besonders wenn er umgekehrt in Oel zu stehen kam.

Wir erzielten dasselbe Resultat, indem wir als Reaktiv des Sauerstoffs das Kali pyrog. benutzten.

Der Technik dieser neuen Methode folgend, stellten wir Versuche mit dem Bac. tetani, dem Bac. oedematis maligni und dem Bac. anthracis symptomatici an. Diese Versuche waren natürlich immer von Kontrollversuchen begleitet. Die Resultate sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

Stichkulturen folgender Mikroorganismen	Agar ungekocht	Agar gekocht	Agar gekocht, mit $^1/_2$ ccm Paraffin bedeckt	Agar mit Zusatz von $2^1/_2$-prom. Kali pyrogall.	Neue Methode
B. tetani	++	+	+	+	— —?
B. oedematis maligni	++	+	—	+	— —
B. anthracis symptomatici	++	+	+	—	— —

Resultat: Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Entwickelung der Anaëroben kräftiger ist, sobald Spuren von freiem Sauerstoff sich im Substrat befinden, und daß sie mit dem Abnehmen des Sauerstoffs nach und nach an Intensität abnimmt.

* * *

In der beschriebenen Methode haben wir ein gutes anaërobisches Mittel für Stichkulturen gefunden. Es war daher von höchstem Interesse, eine für Strichkulturen geeignete Methode zu finden[1], um die Impfung so innig wie möglich in Berührung mit der anaërobischen Flüssigkeit zu lassen; um so mehr, da die Strichkulturen in Kapseln, die umgekehrt in Kali pyrog. zu stehen kommen, eine weit bessere Anaërobiose geben als Stichkulturen in Röhrchen, die ebenfalls in Kali pyrog. umgekehrt sind.

---

[1] Um die Züchtung der anaëroben Kulturplatten unter völligem Ausschluß von atmospärischem Sauerstoff anzulegen, beschreibt H. Hammerl (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. No. 17 u. Bd. XXXI. No. 12) eine eigene Methode. „Das Wesentliche dieses Verfahrens besteht darin, daß man dem Nährboden frisch bereitetes NH_4HS in bestimmter Konzentration zusetzt und nach Ausgießen desselben in eine Petri-Schale an dem Deckel einen mit starker Pyrogallussäurelösung getränkten Bierfilz (aus Cellulose hergestellte Bierglasunterlagen) befestigt, worauf Schale und aufgeschliffener Deckel durch eine Wachstalgmischung nach außen abgedichtet werden." Später hat er seine gute Methode in folgender Weise verbessert: „Er gibt die Schalen in eine Glasdose mit genau eingeschliffenem Deckel und absorbiert den Sauerstoff innerhalb der Dose durch eine stark konzentrierte Pyrogallussäurelösung. Dieselbe bereitet er in der Weise, daß er 20 g Pyrogallol in einem Becherglase abwiegt und in dasselbe hierauf 15 ccm einer 50-proz. KOH-Lösung einfließen läßt. Nach wenigen Minuten ist die Gesamtmenge der Pyrogallussäure gelöst und mit dieser Lösung wird nun ein Bierfilz getränkt, derselbe auf den Boden der Dose gelegt, die beschickten offenen Schalen darüber geschichtet und sodann die Dose luftdicht verschlossen. Bei dieser Anordnung wird sowohl aus der Luft in der Dose als auch aus dem Nährboden der Sauerstoff völlig entfernt und zwar bei Brüttemperatur bereits innerhalb eines Tages, bei Zimmertemperatur innerhalb 36—48 Stunden".

Methode III: Strichkulturen in Kapseln umgekehrt in Kali pyrog. gesetzt.

Zu diesem Versuche kultivierten wir verschiedene Mikroorganismen (fakultative Anaëroben und Aëroben) in Kapseln, die umgekehrt in Kali pyrog. zu stehen kamen. Um zu sehen, ob ein Unterschied in der Entwickelung wahrnehmbar wäre, wurde bei etwas Luftzutritt ein Kontrollversuch gemacht:

Mikroorganismen	Strichkulturen in Schalen im Kali pyrogall. umgekehrt O^2-Zutritt	Strichkulturen in Schalen im Kali pyrogall. umgekehrt ohne O^2-Zutritt
Staph. pyog. aureus	++	0
„ „ citreus	++	0
Bact. coli	++	0
„ rubrum	++	0
„ fluorescens	++	0
„ indicus	++	0
„ pyocyaneus	++	0
„ prodigiosus	++	0
„ viscosus	++ (Gas)	++ (Gas)
B. anthracis	++	0
„ diphtheriae columbarum	++	0
„ megatherium	++	—
„ radiciformis	++	—
„ subtilis	++	0
Pen. glaucum	++	0
Blastomyces	++	0
„	++	0

Resultat: Während die Entwickelung stets sehr kräftig in den Kontrollversuchen war, war sie gewöhnlich negativ in den Strichkulturen in Kapseln.

Nicht klein ist der Unterschied zwischen der Anaërobiose, die man in den Strichkulturen in Kapseln erhält, und den Stichkulturen in Röhren.

In ersteren bleibt offenbar die Impfung mehr unter dem Einflusse des vorhandenen Kali pyrog. und empfindet um so mehr die Anwesenheit des Sauerstoffs.

* * *

Methode IV: Austreibung des O^2 durch Aufkochen, unterstützt durch die Paraffinschicht. Impfung im CO^2-Strom — Kali pyrog. außerhalb des Substrats.

Bevor wir zum Studium der reduzierenden Kraft des Kali pyrog. übergehen, wollten wir feststellen, in welcher Proportion von KOH und Pyrogallussäure der obengenannte Stoff wirksamer ist.

Das Resultat der zu diesem Zweck angestellten Versuche zeigte deutlich, daß das Kali pyrog. im Verhältnis von 10 Proz. Kali und 10 Proz. Ac. pyrog. sehr wirksam ist. Dies geschah nicht in anderen Proportionen, die, obgleich ebenfalls alkalisch, viel langsamer absorbieren. So hatten wir z. B. in dem Versuche mit den Proportionen von Ac. pyrog. und Aetzkali 10 : 1 das Maximum der reduzierenden Kraft nach 48 Stunden.

Versuch. In eine Flasche (*A*, Fig. 3), welche mit einem Pfropfen, in dem sich zwei Oeffnungen befinden, durch welche Glasrohre geleitet werden, versehen ist, leitet man eine halbe Stunde lang einen Strom möglichst sauerstofffreien Kohlensäureanhydrits, sodann gießt man auf den Boden eine Schicht abgekochten und noch kochenden glykosierten Agars, welcher in Gegenwart des CO_2 erstarrt und beim Kaltwerden das O^2 nicht wieder aufsaugt. Die Impfung der dünnen Agarschicht nimmt man stets in einer Kohlensäure-Anhydritströmung vor. Hierauf schließt man den Pfropfen gut, indem man ihn mit Lanolin bedeckt; auch die beiden Rohre *a b*, durch welche der Kohlensäure-Anhydritstrom zieht, werden mit zwei Pinzetten geschlossen.

Man kehrt dann das so bereitete Kulturgefäß um und hält es durch einen geeigneten Halter in ein mit Oel gefülltes Gefäß. Durch die Röhre *a* gießt man sodann eine konzentrierte Lösung von Kalihydrat, welches den unteren Teil des Apparats einnimmt und das Kohlensäure-Anhydrit aufsaugt. Endlich fügt man so viel von einer 10-proz. Pyrogallussäure hinzu, daß dieselbe in ein richtiges Verhältnis zum Kali, wie es unsere Versuche lehren, und in eine richtige Entfernung vom Substrate kommt.

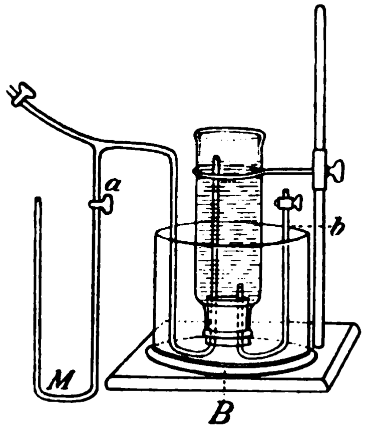


Fig. 3.

Mittels dieser neuen Kulturmethode erlangt man:

1) Entfernung des Sauerstoffs aus dem Substrat durch Aufkochung und Verhinderung der Wiederaufsaugung beim Erkalten des Substrats.

2) Absorbierung des Sauerstoffs des Substrats durch reduzierende Substanzen, die im Substrat selbst aufgelöst werden.

3) Ersetzung der Kulturatmosphäre durch anderes Gas.

4) Absorbierung des Sauerstoffs durch Kali pyrog. in den wirksamsten Proportionen.

Versuch: Am Kulturapparat Fig. 3 *B* befestigten wir ein Quecksilbermanometer, welches den nach der Absorbierung des Kohlensäureanhydrits durch die Aetzkalilösung und des übrig gebliebenen Sauerstoffs durch Kali pyrog. noch bleibenden Druck des Kulturraumes angibt.

Resultat: Kaum gelangte die Aetzkalilösung in das Innere des Apparates, so zeigte das Manometer sofort ein bedeutendes Sinken des Druckes an, das später fast zum vollständigen Vakuum führte.

Als wir die Pyrogallussäure in den Apparat brachten, verrückte sich das Manometer um noch einige Millimeter infolge der Absorbierung der noch übrig gebliebenen Spuren von Sauerstoff.

Die letzte, obwohl sehr geringe Verrückung des Manometers infolge der Bildung des Kali pyrog. zeigte uns, daß trotz des langen Durchströmens des Kohlensäureanhydrits durch den Apparat dennoch einige Spuren freien Sauerstoffs geblieben waren.

Wir heben dies hervor, indem wir uns auf das berufen, was sich auf das Setzen eines Gases an die Kulturatmosphäre, als anaërobisches Mittel, bezieht, und worüber wir im ersten Teile unserer Arbeit handeln.

* * *

Methode V: Bereitung und Wirkung des Chromchlorür — Entfernung des O^2 aus dem Substrat durch Aufkochen und durch CO^2 — Chromchlorür außerhalb des Substrats.

Das Chromchlorür, welches unter den anorganischen Verbindungen vielleicht der beste Sauerstoffbinder ist, hat in der Kulturtechnik der Anaëroben noch keine Anwendung gefunden.

Fermi versuchte es zum ersten Male mit Ulpiani in einigen noch nicht veröffentlichten Versuchen. Daher haben wir diese Verbindung studieren wollen, indem wir mit derselben einige Versuche anstellten.

Wir bereiteten das Chromchlorür nach der Recouraschen Methode durch Reduktion des Kaliumbichromats mit Zink- und Chlorwasserstoffsäure in Kohlensäureanhydrit[1]. Wir ließen während einer halben Stunde oder etwas länger einen Strom von Kohlensäureanhydrit durch einen gut mit destilliertem Wasser gewaschenen Glasballon ziehen. Dieser Strom ging durch den gewöhnlichen, aus zwei Mariottischen Flaschen[2] bestehenden Erzeuger und strömte durch ein Glasrohr, welches, durch den Gummistöpsel gehend, fast den Boden des Ballons erreichte, ein und durch ein anderes, nur bis an die innere Oberfläche des Stöpsels gehendes Glasrohr wieder aus. Sodann legten wir in den Ballon:
300 g Zink
50 „ in fein pulverisiertes Kaliumbichromat
300 ccm Chlorwasserstoffsäure, in
200 g destillierten Wassers verdünnt,
indem wir immer mit dem vorhandenen Kohlensäureanhydrit arbeiteten. Es entstand eine geräuschvolle Reaktion mit starker Gasentwickelung. Erst nach Beendigung der Reaktion bedienten wir uns des erhaltenen Chromchlorürs. Leitet man nun einen Luftstrom durch zwei Spülflaschen, so hält die erste den Sauerstoff vollständig auf und die zweite ändert die Farbe nicht mehr, während die geringste Oxydierung genügt, um der Chromchlorürlösung die volle Klarheit und die schöne violette Farbe zu nehmen und es in eine grüne, dunkle Flüssigkeit zu verwandeln.

Die verhältnismäßig lange und delikate Zubereitung, welche die Recourasche Methode verlangt, bewog uns, auch das sich im Handel befindliche Chromchlorür (Schuchardt) zu versuchen. Die reduzierende Energie dieses Präparats übertrifft ohne Zweifel alle anderen. Außerdem, und gerade wegen dieser Energie, ist das im Handel befindliche Chromchlorür immer etwas oxydiert, so daß es, anstatt weiß zu sein, ein wenig ins Grün übergeht. Trotzdem bewahrt es immer seine stark reduzierenden Eigenschaften. Die Atomgewichte berechnend, haben wir gesehen, daß ungefähr eine Lösung dieses Chromchlorürs zu 5 Proz. dem von uns bereiteten entsprechen würde.

Das von uns bereitete Chromchlorür, obwohl wir es erst nach Beendigung der Reaktion anwandten, und als der durch das Ausgangsrohr des Ballons gehende Strom von Kohlensäureanhydrit das blaue Papier nicht mehr rötete, macht ohne Zweifel Chlorwasserstoff-Säuredämpfe frei.

---

1) Die Einzelheiten dieser Herstellung sind in der Abhandlung Recouras selbst beschrieben: Recherches sur le clorure de chrome. (Ann. de chim. et phys. Sér. VI. T. X. p. 1.) Für die anderen Bereitungsmethoden des Chromchlorür siehe Wöhler, Ann. ch. pharm. T. CXI. p. 230. — Ufer, ibid. T. CXII. p. 281. — Moberg, J. pr. Chem. Bd. XXIX. p. 175, 435, 125; Bd. XLIV. p. 322, 327. — Peligot, Ann. ch. phys. (3.) T. XII. p. 327; Ann. ch. pharm. T. LII. p. 244. — Loewel, Ann. ch. phys. (3.) T. XL. p. 42; J. pr. Chem. Bd. LXII. p. 11.

2) Dieser Apparat und nicht jener Kipps ist anzuwenden, da, wie wir sehen werden, ein bedeutender Druck des Kohlensäureanhydrits zum Versuche notwendig ist.

Indem wir eine Lackmuslösung an das Ende des Scheidestriches brachten, prüften wir die Säurereaktion der Ballonatmosphäre.

Auf diese Weise haben wir feststellen können, daß die Atmosphäre des Ballons, die Chromchlorürsublimat enthält, keine Säurereaktion zeigte, während diese im Ballon des von uns bereiteten Chromchlorürs stattfand.

Dessenungeachtet konnten wir uns überzeugen, daß diese Säurereaktion die Entwickelung der Mikroorganismen nicht hindert.

Da wir uns des im Handel befindlichen Chromchlorürs bedienen wollten, war es notwendig, festzustellen, in welchem Verhältnis dasselbe aktiv sei; und indem wir uns auf die Tatsache stützten, daß die Partialspannung des Sauerstoffs $^1/_5$ des ganzen Druckes ausmacht, haben wir folgenden Versuch angestellt:

Wirkung des Chromchlorürsublimats in verschiedenen Konzentrationen:

100 mg sublimierten Chromchlorürs wurden in eine Röhre gleichen Volumens gebracht (Fig. 10), sodann gossen wir 30 ccm destillierten Wassers darauf.

Nach kräftigem Schütteln der Lösung in Gegenwart von Kohlensäureanhydrit brachten wir in jeder Eprouvette ein 25 cm langes, an dem oberen Ende geschlossenes Rohr von gleichem Kaliber an.

Natürlich stieg die Mischung im Rohre nicht, weil sie durch die Luft daran verhindert war, aber kaum war der Sauerstoff durch das Chromchlorür aufgesaugt, so begann die Fixierflüssigkeit so weit aufzusteigen, wie das sich gebildete Vakuum war.

Aus der Höhe der Flüssigkeitsfläche im Rohre konnten wir mit Bestimmtheit auf die größere oder kleinere absorbierende Kraft der Lösung schließen.

Wir stützten uns dabei besonders auf die nach 24 Stunden erhaltenen Resultate, denn wir hatten wahrgenommen, daß dieser Zeitraum mehr als genügend war, um den ganzen Sauerstoff zu fixieren. Daher konnten wir nach Verlauf dieser Zeit unsere Kultur in die Lage der Entwickelungstemperatur bringen.

Resultat: Erst nach 2 Stunden und nach den verschiedenen Graden, in welchen das Chromchlorür in den Röhrchen stieg, begann sich die verschiedentliche Fixierungskraft der Lösung desselben zu zeigen.

Lösungen	Höhe des Chromchlorürs in dem Röhrchen	Zeit der Beobachtung
0,1:30	2,5 cm	Nach 24 Stunden
0,2:30	3,0 „	„ 24 „
0,3:30	4,8 „ 5,2 „	„ 24 „
0,4:30	5,2 „	„ 48 „
0,5:30	5,2 „	„ 24 „
0,6:30	5,2 „	„ 24 „
0,7:30	5,2 „	„ 24 „
0,8:30	5,2 „	„ 24 „
0,9:30	5,2 „	„ 24 „
1,0:30	5,2 „	„ 24 „

Aus dieser Tabelle erhellt, daß in unseren Verhältnissen die wirksamste Chromchlorürlösung 0,4:30 ist.

1. Versuch: Wir ließen einen Strom von Kohlensäureanhydrit durch einen Glascylinder *A*, Fig. 4, ziehen. Dieser Strom wurde durch das Glasrohr *a* ein- und durch das andere Rohr *b* hinausgeleitet.

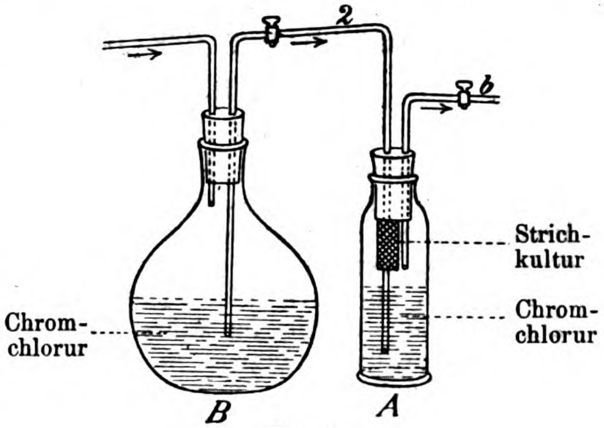


Fig. 4.

Die Rohre wurden in den Stöpsel gezwängt und zur größeren Sicherheit auf der ganzen Oberfläche, welche mit dem Stöpsel in Berührung kam, mit Paraffin bestrichen. Außerhalb endigten dieselben in Gummirohre, welche mit Druckpinzetten versehen waren.

An der inneren Oberfläche des Stöpsels war eine kleine Glasscheibe angebracht, welche in den Cylinder hineinhing, und deren eine Seite eine leichte, durch einen Paraffinrand gehaltene Agarschicht trug.

Auf der Agarschicht wurden Strich-, Stich- und Aussaatkulturen der zu untersuchenden Mikroorganismen angestellt.

Nach Fertigstellung des Apparats wurde derselbe mittels des Rohres *a* mit einer Quelle von Kohlensäureanhydrit in Verbindung gesetzt, um die Luft vollständig aus dem Cylinder zu vertreiben.

Hierauf wurde der Cylinder *A* (Fig. 4) mit dem Glasballon *B*, in welchem vorher das Chromchlorür bereitet worden war, in Verbindung gesetzt. Letzteres wurde durch eine Drucksteigerung des Kohlensäureanhydrits bis zur gewünschten Höhe in den Kulturapparat getrieben, ohne daß die Kulturplatten je mit der Luft in Berührung kamen und immer in Gegenwart des Kohlensäureanhydrits blieben.

Nach geschehener Operation wurden die beiden Druckpipetten *a* und *b* zusammengepreßt oder die vorher in passender Weise abgebrochenen beiden Rohre mit der Lampe verlötet.

Resultat: Auf diese Weise schufen wir einen sauerstofffreien Raum um die Kulturplatten herum:

1) infolge des Ersatzes der Luft im Cylinder durch Kohlensäureanhydrit;

2) durch die Fähigkeit des Chromchlorürs, das im Cylinder gebliebene O^2 zu fixieren.

Die so angefertigten Kulturen blieben, bevor sie in den Thermostaten kamen, 2—5 Tage im Eisschranke, um nicht die Entwickelung der Anaëroben zu ermöglichen, bis das O^2 vollständig absorbiert war.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Die Steigerung der Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus zu der des Rindertuberkelbacillus.

Von Dr. **D. A. de Jong** in Leiden.

Mit 3 Kurven und 9 Figuren.

Die experimentelle Pathologie findet noch immer neue Aufgaben auf dem Gebiete der Tuberkuloseätiologie. Ueber den Tuberkelbacillus sind die Meinungen noch immer geteilt, und namentlich wird eifrig gearbeitet an der Lösung der Frage: Ist der Tuberkelbacillus des Menschen und der des Rindes identisch oder nicht?

Diese Arbeit wurde im Jahre 1901 angeregt von Koch, welcher auf dem Tuberkulosekongreß in London sagte: „Human tuberculosis differs from bovine, and cannot be transmitted to cattle. It seems to me very desirable, however, that these experiments should be repeated elsewhere, in order that all doubt as to the correctness of my assertion may be removed.“

Und sicher war es notwendig, die neue Meinung Kochs näher zu prüfen, denn er behauptete auch: „I should estimate the extent of infection by the milk and flesh of tubercular cattle, and the butter made of their milk, as hardly greater than that of hereditary transmision, and therefore I do not deem it advisable to take any measure against it.“

Seit jener Zeit ist eine mannigfaltige Literatur über den Gegenstand veröffentlicht worden. Von großer Wichtigkeit sind die Arbeiten von v. Behring, welcher nicht nur keinen prinzipiellen Unterschied zwischen dem humanen und dem bovinen Tuberkelbacillus zuläßt, sondern gerade den ersteren anwendet zur Immunisierung gegen den letzteren; und weiter die Arbeiten, welche unter Leitung Kossels (1) auf Grund der Kochschen Untersuchungen am Reichsgesundheitsamt ausgeführt worden sind.

Es lohnt sich, die Resultate der Kosselschen Untersuchungen mit den Aeußerungen von Koch in London zu vergleichen. Es wurden jetzt zweifellos aus dem menschlichen Körper Tuberkelbacillen isoliert, welche eine hohe Virulenz für das Rind zeigten, und diese Tatsache behält auch dann ihren Wert, wenn die Untersucher diese Bacillen als ursprünglich vom Rinde herstammend ansehen. Und die Arbeit schließt mit den Worten: „Vielleicht ist es aber nicht überflüssig, darauf hinzuweisen, daß eine Aenderung unserer Maßnahmen gegen die Tuberkulose zur Zeit weder in der einen noch in der anderen Richtung befürwortet werden kann.“

Man darf wohl sagen, daß die Schlußfolgerungen Kochs in London zu weitgehend waren, und daß die neueren Untersuchungen denselben keine Stütze geboten haben. Auf Grund eigener Arbeit glaube ich annehmen zu können, daß auch die Kochsche Meinung, welche ihren Ausdruck in der soeben genannten Abhandlung aus dem Reichsgesundheitsamte findet, nicht die wahre ist. Diese Meinung geht also dahin, daß zwar der Mensch mit Tuberkulose des Rindes infiziert werden kann, jedoch nur in sehr seltenen Fällen, und daß jedenfalls zwischen den Tuberkelbacillen des Menschen und denen des Rindes derartige Unterschiede bestehen, daß man hier nicht von einer, sondern von zwei verschiedenen Arten zu sprechen hat.

Meiner Meinung nach sind eventuelle Unterschiede zwischen menschlichen und Rindertuberkelbacillen nicht als Artunterschiede aufzufassen, sondern als solche, welche zwischen den einzelnen Individuen derselben Art mannigfaltig vorkommen, auch durchaus nicht konstant sind, und in dem Falle, worum es sich hier handelt, sich namentlich als Virulenzunterschiede zeigen, Differenzen also, welche bei den verschiedenen Schizomyceten keine Veranlassung geben, von verschiedenen Arten zu reden.

Daß Virulenzunterschiede bestehen, dazu hatten mich meine ersten Untersuchungen (2, 3) geführt, welche vor dem Londoner Kongreß, als mir von dem neuen Kochschen Standpunkte noch nichts bekannt war, abgeschlossen wurden, und wobei die niederländische Regierung mich unterstützt hat. Mit einigen Worten will ich auf diese Untersuchungen zurückkommen.

Bei den damals verwendeten Versuchsrindern applizierte ich den intravenösen Impfungsmodus. Man hat wohl behaupten wollen, daß dieser weniger geeignet sei. Meiner Meinung nach, mit Unrecht, denn keine Methode ist besser dazu geeignet, um bei richtiger Anwendung pathogene Eigenschaften von Tuberkelbacillen besser zu Tage zu fördern, als gerade diese. Und sie wurde genau appliziert, es wurde nämlich immer sorgfältig darauf geachtet, daß die Tuberkelbacillen ganz fein in der Flüssigkeit verteilt waren. Kein Wunder deshalb, daß auch viele andere Forscher diese Methode verwendet haben, wie Arloing, v. Behring und auch Koch und Schütz selbst; und weiter ist es sehr merkwürdig, daß Kossel und seine Mitarbeiter, welche der subkutanen Methode den Vorzug geben, vor der intravenösen, weil letztere so viele Vorsichtsmaßregeln erfordert, und sowohl durch Giftwirkung als durch Embolieen in der Lunge einen fehlerhaften Versuch liefern kann, gerade in zweifelhaften Fällen diese intravenöse Methode verwenden, um ein sicheres Resultat zu bekommen (vergl. p. 30 der zitierten Abhandlung 1).

Von mir wurde der Impfstoff immer gut in der zu injizierenden Flüssigkeit verteilt, und überdies war mir durch Experimente mit abgetöteten Tuberkelbacillen und mit Vogeltuberkelbacillen der Unterschied zwischen Infektion und Giftwirkung sehr gut bekannt.

Zweifellos ist die intravenöse Methode für ähnliche Versuche eine ausgezeichnete.

Weiter hat man behauptet, daß bei den Versuchen zu viel Bacillen einverleibt worden seien. Eine solche Bemerkung hat jedoch keinen Wert mehr, wenn man die großen Bacillenmengen, welche Koch und Schütz eingespritzt haben, in Betracht zieht.

Nach dem Jahre 1901 war es jedoch Aufgabe geworden, die Versuche von Koch und Schütz zu wiederholen und zu prüfen, und es versteht sich also, daß ich in späteren Versuchen, namentlich an Rindern, andere Infektionsmethoden, speziell auch die subkutane, verwendete.

Und nun gelang es uns bald zu zeigen, daß der Mensch einen Tuberkelbacillus liefern kann, welcher in seiner Wirkung auf das Rind dem diesem Tier eigenen Mikroorganismus nicht nachsteht. Tuberkelbacillen nämlich, welche aus dem Sputum eines Bauernmädchens gezüchtet waren, verursachten einen raschen Tod bei Kälbern sowohl bei subkutaner als bei intravenöser und intrapulmonärer Anwendung.

Man kennt den Wert, welchen Koch der subkutanen Methode beimißt. Werden Tuberkelbacillen unter die Haut eines Kalbes gespritzt, und entwickelt sich nur ein lokaler oder wenig progressiver Prozeß, so hat man es mit einem Tuberkelbacillus des Menschen zu tun. Entsteht jedoch eine stark progressive Tuberkulose mit bedeutender Anschwellung der regionären Lymphdrüsen, dann ist es ein Rinderbacillus.

Die obengenannten Versuche mit einem aus menschlichem Sputum gezüchteten Tuberkelbacillus, von Dr. Stuurman ausführlich in seiner Probeschrift erwähnt (4), haben einen Menschenbacillus kennen gelehrt, der für das Rind gerade so virulent ist, wie der Rinderbacillus.

Solche Bacillen sind auch in anderen Fällen aus dem menschlichen Körper isoliert worden und, wie schon gesagt, auch im Reichsgesundheitsamt in Berlin. Gewöhnlich betraf dies jedoch Fälle von Darm- oder Mesenterialdrüsentuberkulose, welche man als von Rinderbacillen verursacht betrachtete. In dem Stuurmanschen Falle jedoch war es ein Sputum-Bacillus, isoliert in einem Falle von primärer Lungentuberkulose, insofern die Klinik dies feststellen konnte. In dieser Hinsicht bleibt der Fall immer sehr interessant, und jedenfalls wurden wir darin bestärkt, den Kochschen Standpunkt für unrichtig zu halten.

Aber gewöhnlich zeigen die Rinderbacillen doch eine mehr pathogene Wirkung als die des Menschen. Bevor ich auf weitere Untersuchungen hinsichtlich dieser Wirkung eingehe, weise ich darauf hin, daß morphologische und Kulturunterschiede und auch anatomische Differenzen bei Impfungen kleiner Versuchstiere von mir ebensogut wie von anderen gesehen wurden. Aber — ich habe es mehrfach betont (vergl. 2, 3 und 5) — niemals fand ich diese Unterschiede konstant. Und die anatomischen Unterschiede, namentlich bei Meerschweinchen, waren nur als Folgen der Virulenzunterschiede aufzufassen.

Je virulenter ein Tuberkelbacillus, um so mehr nähert sich die Tuberkulose eines damit geimpften Meerschweinchens der, welche man nach Impfung mit Rinderbacillen in der Regel zu sehen bekommt.

Wäre unsere Auffassung, welche von verschiedenen anderen geteilt wird, daß zwischen Menschen- und Rinderbacillen hauptsächlich nur Virulenzunterschiede bestehen, die richtige, dann müßte es doch möglich sein, die Virulenz des Menschenbacillus zu steigern gegenüber der des Rinderbacillus?

Es sind schon mehrere Untersuchungen in dieser Richtung ausgeführt worden. Ravenel, welcher sofort auf dem Londoner Kongreß der Meinung von Koch auf Grund eigener Untersuchungen widersprach, ist in dieser Hinsicht an erster Stelle zu nennen. In einer späteren Publikation (6) zeigt er, daß es ihm gelungen ist, die Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus mittels successiver Passagen durch den Rinderkörper zu steigern. Wörtlich sagt er hierüber folgendes:

"Increase of virulence by successive passages through calves. In another experiment instituted by Dr. Leonard Pearson we have proved that a typical tuberculosis can be produced in young cattle by large and repeated doses of a human culture of moderate virulence; and what is even more interesting and important, by successive passages through calves we have succeeded in bringing about a marked increase in the virulence of this culture. The culture employed was isolated from human sputum in September 1899, and is designated "M". The animals were inoculated at intervals of a week, the amount of culture being divided into four equal portions which were injected into the jugular vein, the lung, the peritoneal cavity, and under the skin. Each week the dose was increased by 10 c.c.

Two calves were infected in this manner, Nos 26 562 and 26 563.

With the tissues of No. 26 562 the serial inoculations were begun, the details of which is given below. The result is shown in the following table:

No.		Amount of injection	Length of life
1	Calf 26 562	925 c.c.	106 days
2	„ A 45 020	16 „	48 „
3	„ A 45 035	13 „	23 „
4	„ A 45 047	10 „	24 „
5	„ A 45 073	14 „	24 „

Das Kalb 26 562 war also wöchentlich auf 4 verschiedenen Wegen injiziert worden, bis der Tod nach 106 Tagen erfolgte. Danach bekam das Kalb 45 020 8 ccm in die Lunge und 8 ccm in die Bauchhöhle von einer aus der Bronchialdrüse des Kalbes 26 562 bereiteten Suspension; das Tier starb nach 48 Tagen. Von einer Suspension des Omentums bekam das Kalb 45 035 5 ccm in die Lunge und 8 ccm in die Bauchhöhle; Tod nach 23 Tagen. Von diesem Kalbe wurde eine Suspension aus Lunge und Bronchialdrüse hergestellt, und davon wurden 5 ccm in die Lunge und in die Bauchhöhle des Kalbes 45 047 gespritzt; Tod nach 24 Tagen. Kalb 45 073 bekam in derselben Weise 14 ccm einer Emulsion, bereitet aus den Organen des vorigen Kalbes; Tod nach 24 Tagen.

Ravenel schließt aus diesen Versuchen auf eine nicht zu leugnende Virulenzsteigerung des verwendeten Sputumbacillus mittels der Kälberpassage. Eine derartige Schlußfolgerung ist wirklich möglich. Es ist jedoch zu bedenken 1. das Einführen des Impfstoffes auf verschiedenen Wegen zu gleicher Zeit und 2. die Verwendung der Organsuspensionen, wodurch die Menge der eingebrachten Impfstoffe sich nicht bemessen läßt.

Ueber die Möglichkeit der Virulenzsteigerung des Tuberkelbacillus des Menschen mittels Tierpassage äußert sich sehr bestimmt v. Behring, also eine Autorität auf diesem Gebiete. Er sagt (4), daß gegen einen Artunterschied zwischen Menschen- und Rindertuberkelbacillus anzuführen ist: „die Möglichkeit, durch geeignete Tierpassage dem Menschentuberkelbacillus eine hohe Rindvirulenz zu verleihen“, und weiter (auf p. 15) heißt es: „Ebenso wie die vom Rinde stammenden Modifikationen des Tuberkulosevirus schließe ich von der Verwendung für praktische Immunisierungszwecke diejenigen vom Menschen stammenden Virusmodifikationen aus, welche in ihrer Rindvirulenz den ersteren nahe stehen. Dahin gehören namentlich die Ziegenpassage- und Rindpassagekulturen.“

Moeller (8) hat keine Virulenzsteigerung mittels Passage durch den Ziegenkörper erhalten. Römer, der Mitarbeiter v. Behrings, sagt hierzu (9): „Neuerdings veröffentlichte Moeller einige Experimente zur Frage der Uebertragbarkeit der Menschentuberkulose auf Rinder und Ziegen. Dabei erwähnt er einen Infektionsversuch an einer Ziege, die durch intraperitoneale Infektion mit Menschentuberkelbacillen an einer ausgebreiteten Knötchenaffektion des Bauchfells erkrankte. Von den zahlreichen Tuberkelbacillen enthaltenden Knötchen übertrug er 20 auf ein junges Rind i. p. (intraperitoneal), ohne eine Allgemeininfektion dieses Tieres hervorzurufen. Moeller glaubt, daß die Virulenz durch die Ziegenpassage nicht erhöht sei, was v. Behring von der Passage der Menschentuberkelbacillen durch den Ziegenkörper behauptet habe. Meiner Meinung nach beweist der eine Versuch Moellers überhaupt nicht, was er soll. Wie ich schon eingangs sagte, ist für das tierexperimentelle Arbeiten mit Tuberkelbacillen speziell bei Infektionsversuchen, in denen es sich um Feststellung der Virulenz handelt, eine genaue Beachtung der quantitativen Verhältnisse, eine genaue Dosierung der zur Infektion verwendeten Tuberkelbacillen und daher selbstverständlich Arbeiten mit Reinkulturen dringend erforderlich. In dem Moellerschen Versuch kann daher von quantitativem Arbeiten nicht die Rede sein. Ich möchte übrigens hier darauf hinweisen, daß die Passage durch den Ziegenkörper durchaus nicht immer die Virulenz der Tuberkelbacillen erhöhen muß. Wir verfügen selbst über mehrere derartige Erfahrungen, auf die ich weiter unten bei der Besprechung der Kulturen 5 und 6 zurückkommen werde, und die uns zeigten, daß die Erhöhung der Virulenz der Menschentuberkelbacillen durch den Ziegenkörper durchaus nicht eine gesetzmäßige Erscheinung ist."

Gratia (10) konstatierte keine Virulenzsteigerung des menschlichen Tuberkelbacillus nach Passage durch die Ziege und durch das Schwein.

Eine große Autorität auf dem Gebiete der Tuberkuloseätiologie ist sicher Arloing in Lyon. Sein Urteil ist auch darum von großer Wichtigkeit, weil er durch seine Studien und seine wissenschaftliche Stellung die Tuberkulose des Menschen ebensogut kennt wie die der Tiere. Als Tuberkuloseforscher nimmt er eine hervorragende Stellung ein, und zahlreich sind seine Untersuchungen auf diesem Gebiete und auf dem der Identitätsfrage. Auf dem Kongreß für Hygiene und Demographie in Brüssel (1903) wurde von ihm ein höchst merkwürdiger Bericht erstattet (11). Auffallend ist es, dort zu lesen, daß er Koch und Schütz und ihren Nachfolgern den Vorwurf macht, daß ihre wissenschaftlichen Methoden und Schlußfolgerungen zu wünschen übrig lassen, und daß die den ihrigen entgegengesetzten Resultate Anderer von ihnen keine genügende Anerkennung finden. Und weiter folgt eine interessante Kritik der Untersuchungen von Koch und seinen Mitarbeitern und der von ihnen gemachten Schlußfolgerungen. Für Arloing sind die abweichenden Resultate bei den Impfungen mit Tuberkelbacillen nur die Folge von Virulenzunterschieden des Koch schen Bacillus und auch — von der Resistenz der Tierart und des Individuums. Kultur- und Formunterschiede findet er gar nicht konstant genug, um Rinder- und Menschenbacillen zu trennen; und diese Meinung ist darum so wichtig, weil sie von dem Entdecker der homogenen Kulturen ausgesprochen wird.

Was die Virulenz weiter anbelangt, behauptet er, nicht nur Menschen-, sondern auch Rinderkulturen von verschiedener Virulenz isoliert zu haben. Er hat Rinderbacillen gezüchtet, welche, subkutan dem Rinde verimpft, keine allgemeine Tuberkulose verursachten; das von Koch angegebene Kriterium ist also unzuverlässig. Und auch hat er experimentell die Virulenz der Menschenbacillen gesteigert, und zwar schon mittels Meerschweinchenpassage. Weiter konnte er durch seine homogenen Kulturen die Virulenz von Menschen- und auch von Rinderbacillen abändern.

In jüngster Zeit hat Karliński (12) eine Menge von Versuchen an Ziegen ausgeführt; er konnte nach einmaliger Passage von menschlichen Tuberkelbacillen durch den Ziegenkörper eine deutliche Virulenzsteigerung für die Ziege wahrnehmen. Dasselbe meint er für das Kalb beobachtet zu haben. Letztere Meinung ist jedoch nicht einwandsfrei, denn das Kalb bekam keine progressive Tuberkulose.

Faßt man alles dasjenige, was in letzterer Zeit auf dem Gebiete der Tuberkuloseätiologie, und speziell das, was über den Unterschied zwischen

Menschen- und Tiertuberkelbacillen veröffentlicht worden ist, zusammen, dann fällt es wirklich schwer, nicht zur Schlußfolgerung zu kommen, daß zwischen diesen Bacillen kein prinzipieller, beständiger Unterschied besteht, und daß die Differenz bezüglich der pathogenen Wirkung nichts weiter ist, als eine Virulenzdifferenz, welche bei verschiedenen pathogenen Mikroorganismen als eine gewöhnliche Erscheinung gedeutet wird. Aber — dann muß es doch auch gelingen, wie ich schon früher sagte, auf experimentellem Wege in irgend einer Weise eine deutliche Virulenzänderung zu stande zu bringen. Und nun hat sich hinsichtlich des dazu eingeschlagenen Weges v. Behring am bestimmtesten geäußert.

Sei es nun Wahrheit oder nicht, was Arloing behauptet, daß Koch und seine Freunde den Resultaten ihrer Gegner keinen großen wissenschaftlichen Wert beilegen, die Meinung von v. Behring hat jedenfalls Eindruck gemacht. Die Untersuchungen, welche im Reichsgesundheitsamt unter Kossels Leitung zur Nachprüfung derjenigen von Koch und Schütz ausgeführt werden sollen, sind nur teilweise abgeschlossen. Auf dem Programm ist aber erwähnt: „Ein- oder mehrmalige Passage schwach virulenter Kulturen von Tuberkelbacillen durch den Ziegenkörper (5 Ziegen) und Einspritzung der aus der Ziege gewonnenen Kulturen bei 3—6 Monate alten Kälbern.“ Die Ziegenpassage wird also systematisch erprobt werden. In der schon veröffentlichten Arbeit (1, p. 22) wird jedoch schon etwas mitgeteilt von der Passage durch den Rinderkörper. Die Untersucher haben bei Rindern, welche mit Menschenbacillen geimpft worden waren, und bei denen nach Ablauf von 4 Monaten die Veränderungen in der regionären Bugdrüse nicht beendet waren, die Bacillen aus der Bugdrüse herausgezüchtet und auf ihre Virulenz für das Rind geprüft. Eine Virulenzsteigerung war nicht zu spüren, auch nicht bei Anwendung der intravenösen Methode!!

Von der Virulenzsteigerung der Tuberkelbacillen, und speziell von der Möglichkeit, den Bacillus des Menschen, welcher in der Regel (ich spatiiere) wenig virulent für das Rind ist, zu steigern zu der Virulenz, welche der Rinderbacillus in der Regel (ich spatiiere wieder) für das Rind hat, ist, wie aus dem Mitgeteilten sich ergibt, nur noch ziemlich wenig bekannt. Daß dasselbe jedoch bestimmt möglich ist, wird ersichtlich sein aus den Versuchen, welche ich mitteilen werde.

Zum voraus will ich jedoch daran erinnern, daß man bei allen Tuberkuloseinfektionsversuchen dafür zu sorgen hat: 1) daß gesunde Tiere verwendet werden und 2) daß die Tiere gegen zufällige Tuberkuloseinfektion geschützt werden. Aus den ziemlich zahlreichen Versuchen, welche wir ausgeführt haben, sind uns die Gefahren der zufälligen Infektion bekannt; wir haben also unsere Maßnahmen so getroffen, daß solche Infektionen nicht stattfinden konnten. Und solche Tiere, welche auf Grund der nach bestimmten Regeln vorgenommenen Tuberkulinprüfüng nicht als ganz tuberkulosefrei betrachtet werden konnten, wurden nicht verwendet. Bei den zu erwähnenden Versuchen wurden also nur gesunde Tiere genommen und ist jede zufällige Infektion ausgeschlossen.

Für die Mitteilung der neuen Experimente muß ich zurückverweisen auf meine vor 1901 angestellten Untersuchungen und speziell auf die Versuche III, V und VI (3). In diesen Versuchen wurden eine Ziege und zwei Rinder intravenös mit demselben vom Menschen herrührenden

Tuberkelbacillus infiziert. Dieser Bacillus, welcher damals eine geringe Virulenz zeigte, ist auf einen starken Virulenzgrad gebracht worden.

Die beiden Rinder, ein zweijähriges weibliches Rind und ein 2 Monate altes Kalb, wurden nach der Impfung nur vorübergehend krank, dann augenscheinlich wieder gesund und zeigten nach der Schlachtung nur eine sehr geringe Tuberkulose.

Auch bei der Ziege zeigte sich die geringgradige Virulenz des Menschentuberkelbacillus, jedoch in anderer und höchst interessanter Weise. Das Schicksal dieser Ziege wurde teilweise mitgeteilt in dem Bericht über die genannten Versuche (3) und teilweise auf dem Kongreß für Hygiene und Demographie in Brüssel (5). Erst später erfolgte der Tod des Tieres. Die Geschichte ist in kurzem folgende:

Am 3. April 1900 wurde einer Ziege mit einem Lebendgewicht von 18,7 kg, welche vorher auf Tuberkulin nicht reagiert hatte, in die rechte Vena jugularis eine fein zerteilte Suspension von menschlichen Tuberkelbacillen gespritzt. Die Kultur der Tuberkelbacillen stammte aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Spronck in Utrecht. Sie war von ihm am 4. Juli 1899 aus einer tuberkulösen menschlichen Niere isoliert worden, auf Kartoffeln gezüchtet und am 11. November 1899 und 6. Januar 1900 auf Kartoffel übergeimpft worden. Die Kultur wurde von mir am 13. März 1900 auf glycerinhaltiges Rinderserum gebracht, und diese Serumkulturen wurden zur Infektion der Ziege benutzt.

Nach der Infektion bekam die Ziege Temperatursteigerung, wurde vorübergehend ernstlich krank, nahm an Gewicht ab; der Tod erfolgte jedoch nicht. Nach 46 Tagen schien die Todesgefahr ganz verschwunden, obwohl die Temperaturen noch während längerer Zeit zu hoch blieben. Aber das Tier wurde immer munterer, der Husten nahm ab. Am 1. September wurde das ursprüngliche Gewicht von 18,7 kg wieder erreicht, und nachher wurde das Tier schwerer.

An der Impfstelle hatte sich, weil beim Zurückziehen der Spritzenkanüle einige Tuberkelbacillen in das subkutane Gewebe gelangt waren, eine kleine teigige Infiltration gebildet. Diese Schwellung blieb.

Es war für mich von großem Interesse, diese Ziege auf das Genaueste weiter zu observieren und zu kontrollieren. Im Jahre 1887 nämlich hatte Nocard (12) bei einer Ziege Tuberkelbacillen des Menschen in die Jugularis gespritzt, und das Tier war während drei Jahren am Leben geblieben; dann war es jedoch an einer heftigen Lungentuberkulose als Folge der Impfung verendet. Mir war dieser Versuch immer so sonderbar vorgekommen, daß ich mich entschloß, denselben zu kontrollieren, sobald ich dazu in der Lage sein würde. Die Gelegenheit dazu war jetzt da, und meine Versuchsziege wurde also sorgfältig beobachtet, und selbstverständlich vor zufälliger Infektion geschützt.

Am 31. Juli 1900 war die Temperatur genügend gefallen, um eine Tuberkulination zu gestatten. Die Reaktion war heftig, nicht nur thermisch, sondern auch organisch und lokal. Die Erscheinungen verschwanden mit dem Herabsinken der Temperatur. Nach jener Zeit wurde das Tier mehrmals zur Kontrolle verschiedener Tuberkuline verwendet.

Die Schwellung an der Impfstelle blieb immer fortbestehen; im übrigen zeigte das Tier keine krankhaften Symptome. Im Monat April 1903 jedoch, also drei Jahre nach der Impfung, veränderte sich der Zustand ganz, nachdem ich schon etwas früher wahrgenommen hatte: 1) daß die Schwellung an der Impfstelle sich vergrößert hatte, 2) daß die rechte Bugdrüse an Umfang zugenommen hatte und 3) daß das Tier wieder hustete. Am 20. April abscedierte die Schwellung an der Impfstelle. In dem ausgestoßenen dicken Eiter wurden Tuberkelbacillen gefunden. Die rechte Bugdrüse wurde immer größer, und man konnte darin zwei große Knoten fühlen. Die Temperatur fing wieder an zu steigen. Nach dem 16. Mai verlor das Tier an Gewicht, der Husten nahm zu und kostete immer mehr Mühe; die Atmung wurde frequent. Die Ziege wurde allmählich kranker und verendete in der Nacht vom 26. auf den 27. August 1900, also 3 Jahre und 145 Tage nach der Impfung.

Die Obduktion ergab folgendes: Aus der Maulhöhle fließt ein wenig schaumige Flüssigkeit. An der Impfstelle eine taubeneigroße Schwellung mit verkästem Inhalt. Intima der rechten Jugularis normal. Zwischen der Anschwellung und der Jugularis war ein kleiner verkäster Herd. Beide retropharyngeale Lymphdrüsen stark tuberkulös mit verkästen Herden, die rechte ist mehr krank als die linke. Submaxilläre Lymphdrüsen etwas blutig. Rechte Bugdrüse stark vergrößert, besteht aus zwei großen Herden, der obere verkäst und teilweise verkalkt, der untere nur verkäst (Fig. 1). Linke Bugdrüse nur blutig geschwollen; dasselbe gilt von den unteren Hals-, den Axillar- und den Kniefaltendrüsen. In der supramammären Drüse links ein verkäster Herd. Subkutan am Brustbein einige kleinere Abscesse mit käsigem Eiter.

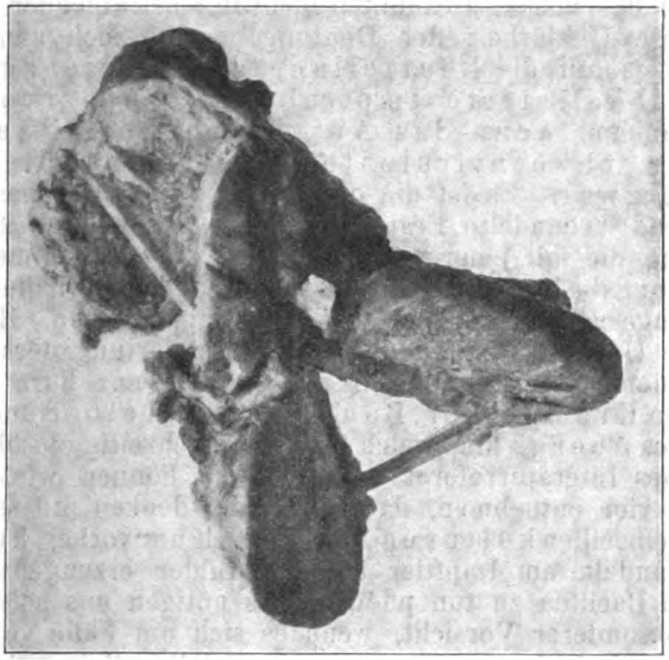


Fig. 1. Bugdrüse der am 26. August 1903 gestorbenen Ziege, mit zwei großen tuberkulösen Herden. $^9/_{10}$ Größe.

In der Bauchhöhle war nur wenig verändert. In Leber, Milz und Niere waren keine Tuberkel zu sehen. Nur in der portalen Lymphdrüse ein verkalkter Herd.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Prof. Weichselbaum) in Wien.]

Von Assistent Dr. **Julius Bartel** und Dr. **Robert Stein.**

Wenn ich trotz vorhandener reichlicher Arbeit auf diesem Gebiete es in Gemeinschaft mit Dr. Stein unternahm, einen weiteren Beitrag zu liefern, so veranlaßten mich in erster Linie hierzu Beobachtungen, die ich gelegentlich des Studiums der Tuberkulosefrage machte, dies namentlich gelegentlich meiner Arbeit „Die Infektionswege bei der Fütterungstuberkulose“. Es war besonders die sichere Deutung von öfters gesehenen Befunden an Impftieren, die ich anstrebte, die ich aber an der Hand des bislang Bekannten nicht in befriedigender Weise finden konnte. Diese Unklarheit der Deutung machte sich namentlich dort geltend, wo es auf die Beurteilung des Virulenzgrades von nur eine lokalisierte Impftuberkulose hervorrufenden Bacillen ankam, wenn das Ausgangsmaterial zu den Versuchen nur schwachvirulenten Tuberkelbacillenkulturen entnommen war. Es ist die oft erörterte und in manchen Punkten widersprechend behandelte Frage der Wirkung lebender und toter Tuberkelbacillen, die mit jener zusammenfällt, die noch immer einer endgültigen Lösung bedarf. An Kulturmaterial hochvirulenter Stämme hat diese Frage schon eingehende Bearbeitung erfahren. Herrscht auch keine völlige Uebereinstimmung in der Beantwortung derselben seitens der verschiedenen Autoren — wir weisen hier nur kurz auf die Ausführungen von Krompecher, Baumgarten, Kelber und auf die Abhandlung Sternbergs hin, welch letztere gleichzeitig ein übersichtliches diesbezügliches Literaturreferat enthält — so können wir doch diesen Angaben so viel entnehmen, daß wir daran denken müssen, daß auch tote Tuberkelbacillenkulturen, hat es sich um vorher hochvirulente Stämme gehandelt, am Impftier ähnliche Bilder erzeugen können, wie es lebende Bacillen zu tun pflegen. Es nötigen uns solche Beobachtungen zu besonderer Vorsicht, wenn es sich um Fälle von Impftuberkulose mit nur lokalen, i. e. an die Impfstelle allein gebundene Veränderungen spezifischer Natur handelt, es also nicht zu einer allgemeinen Ausbreitung der Impftuberkulose gekommen ist. Ob jene Vorsicht in der Beurteilung der Impftuberkulose bezüglich des Virulenzgrades der verursachenden Bacillen auch geboten ist, handelt es sich einmal um sehr schwach virulente Bacillen, des weiteren um Bacillen in sehr geringer Zahl, die in dem von ihnen spezifisch veränderten oder auch noch unveränderten Gewebe in natürlicher Verteilung eingeschlossen sind, darüber können wir jedoch keinen sicheren Aufschluß erhalten. Ob die bei hochvirulenten lebenden und abgetöteten, sowie schwachvirulenten lebenden und toten menschlichen Bacillenkulturen gemachten Beobachtungen sich auf die eben erwähnten Verhältnisse ohne weiteres übertragen lassen, erschien mir nach einzelnen Beobachtungen meinerseits ohne eine Prüfung des entsprechenden Verhaltens nicht angängig. Um diesem Ziele näher zu treten, suchten wir in gemeinsamer Arbeit zunächst zu ergründen, wie sich schwach virulente Bacillen in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe in natürlicher Verteilung steril aufbewahrt bei allmählicher weiterer Abschwächung der Virulenz und wohl auch mit der Zeit eintretenden Verminderung der Zahl in biologischer Hinsicht verhalten und welches ihr Verhalten ist, wenn man sie abtötet. Zugleich hatten die zu diesem Zweck unternommenen experimentellen Studien auch den Zweck, einige Nebenfragen bezüglich Morphologie, Färbbarkeit etc. im Anschlusse zu behandeln. Demgemäß wurde das Arbeitsprogramm, um den verschiedenen sich eng berührenden Fragen gerecht zu werden, folgendermaßen festgesetzt.

„Vor allem sollte ergründet werden, inwiefern der Tuberkelbacillus seine biologischen Eigenschaften ändert, wenn er in dem von ihm spezifisch veränderten Gewebe bei Abwesenheit anderweitiger Mikroorganismen bei Bruttemperatur in feuchter Kammer gehalten wird.“ Die hierbei in Erwägung gezogenen Fragen waren folgende:

„Einmal zu prüfen, ob unter den genannten Verhältnissen eine Vermehrung der Tuberkelbacillen eintritt,

ob eine solche, wenn sie stattfindet, günstigere Verhältnisse für die noch immer schwierige Kultivierung des Tuberkelbacillus bietet,

welcher Art die morphologischen Veränderungen des Tuberkelbacillus sind, desgleichen wie er sich in seinem färberischen Verhalten ändert, endlich

inwieweit eine Abschwächung der Virulenz der Tuberkelbacillen eintritt, und wie sich dieselbe äußert.“

Im Anschlusse sollte geprüft werden

„Ob und inwieweit abgetötete, gleicherweise nur in geringer Zahl in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe in natürlicher Verteilung vorhandene menschliche Tuberkelbacillen — nur von solchen ist in unseren Zeilen die Rede — am Impftier Veränderungen makroskopischer und mikroskopischer Natur hervorrufen und, wenn solches der Fall ist, welcher Art diese Veränderungen sind.“

Technischer Vorgang.

Zum Ausgangspunkt der Versuche wurden lebenswarme exstirpierte tuberkulös veränderte Organe — Milz, Leber, Netz — von Meerschweinchen gewählt, welche Tiere mit schwachvirulentem tuberkulösen Material verschiedener Provenienz — sowohl Kulturmaterial wie auch tuberkulöse Organe vom Menschen — geimpft worden waren. Da die Organe in einzelne Teilstückchen — Proben — zerlegt zur Verimpfung kamen, wurden möglichst gleichmäßig veränderte Organe gewählt, um für alle Proben möglichst gleiche Verhältnisse zu schaffen. Durch die Wahl von Versuchsmaterial verschiedener Provenienz sollten Resultate bei einer Anzahl verschiedener Tuberkelbacillenstämme gewonnen werden, die dann ein mehr allgemein geltendes Urteil gestatten sollten.

Zur Gewinnung des Ausgangsmaterials wurde in folgender Weise vorgegangen: Die mit tuberkulösem Material geimpften Meerschweinchen wurden im Stalle in einem Glasgefäße mit Chloroform getötet. Hierauf wurde in dasselbe Glasgefäß eine heiße hochprozentige Sublimatlösung eingegossen. Nachdem das Fell des Tieres von derselben völlig durchtränkt war, wurde es mit dem Gefäß ins Laboratorium gebracht und daselbst rasch abgehäutet. Die Gefahr einer Materialverunreinigung durch umherfliegende Haare war so unmöglich gemacht, und so eine oberflächliche Sterilisation erreicht. Der enthäutete Kadaver wurde weiter neuerlich desinfiziert — Sublimat 2-prom., Alkohol 95-proz., Bunsenflamme —, mit sterilen Instrumenten — 5 Minuten langes Auskochen derselben in Wasser mit folgendem Einlegen in Alkohol 95-proz. — dessen Peritonealhöhle eröffnet und die betreffenden Organe steril entfernt, in eine sterile Petrischale gebracht, bei allen folgenden Manipulationen wieder steril vorgegangen. Die Organe wurden nunmehr in eine Reihe annähernd gleich großer „Proben" geteilt und jede derselben gesondert in eine Glasschale mit Deckel gebracht — Probe I, II etc. — bis auf ein Teilstückchen, das frisch verarbeitet wurde — frische Probe. — Die ersteren Proben wurden, und zwar die jeden Falles für sich, in feuchter Kammer in den Brutofen bei 38° gebracht (Reihe I, II, III, IV und V A). Einmal wurden sie daselbst bis zum 4. Tage in trockener Kammer belassen und erst am 4. Tage die trockene Kammer in eine feuchte verwandelt (Reihe V B). In ersterem Falle lagen die Probestückchen schon nach 24 Stunden in einer trüben, gelblichen Flüssigkeit und nahmen eine gelbbraune Farbe an. Ihre Konsistenz wurde mit der Zeit sehr weich, das Gewebe leicht zerreißlich, zunderartig. Im zweiten Falle waren die Teilstückchen am 4. Tage eingetrocknet und am Rande splitternd. Nachdem die trockene Kammer in eine feuchte verwandelt wurde, glichen die Probestückchen in kurzer Zeit außerordentlich vollkommen jenen Proben, die von Anfang an in feuchter Kammer gehalten waren. In zwei Fällen (Reihe VI und VII) wurde das Material hohen Temperaturen ausgesetzt. Einmal wurden hierbei die betreffenden Organstücke in toto im Dampfsterilisator durch $1^{1}/_{2}$ Stunden der Wirkung des strömenden Dampfes ausgesetzt (Reihe VI), ein andermal die Organstücke in Bouillon verrieben und dann durch 35 Minuten gekocht (Reihe VII). Die „frische Probe" wurde, wie bereits erwähnt, sofort, die übrigen in verschiedenen Zeiträumen von Tagen bis Wochen verarbeitet. Die Verarbeitung geschah in folgender, sich stets gleich bleibender Weise.

Die Proben wurden steril in kleine Stückchen zerlegt und dieselben verwendet:

1) Zu Aufstrichpräparaten, die auf Tuberkelbacillen nach Weichselbaum gefärbt wurden,

2) zu Schnittpräparaten — Hämalauneosin und Tuberkelbacillenfärbung nach Ziehl-Nielsen bei Alkoholfixierung und Paraffineinbettung,

3) zu Kulturzwecken — Bouillon, Agarplatte, Zuckeragar anaërob, Glycerinagar und Glycerinkartoffel,

4) Tierversuch, und zwar teils subkutane, teils intraperitoneale Impfung an Meerschweinchen. Für die frische Probe bildete hier der Sektionsbefund des Tieres, dem das verarbeitete Organ entstammte, den Maßstab für die Virulenz der eingeschlossenen Tuberkelbacillen.

Die Deckglaspräparate sollten Aufschluß geben über Zahl, Färbbarkeit und Form der Tuberkelbacillen, sowie auch durch Vergleiche der Deckgläser verschiedener Proben annähernde Schlüsse gestatten über eine etwaige Vermehrung der Bacillen. In den ersten Proben waren die Deckglaspräparate, von verriebenem Material hergestellt, wegen der allzu großen Verteilung der Bacillen unbrauchbar.

Der Hämalauneosinschnitt diente zur Orientierung über die Veränderungen des Gewebes unter dem Einflusse der angeführten Behandlung. Der Tuberkelbacillenschnitt

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

gab Aufschluß über das Lagerungsverhältnis der Bacillen wie über deren Gruppierung zueinander. Auch ließ sich erwarten, daß aus dem Schnittpräparat leichter Anhaltspunkte über etwaige Vermehrung von Bacillen zu gewinnen sein würden, als aus den Deckglasbefunden. Auch über Form und Färbung der Bacillen sollten sie ein die Deckglasbefunde bestätigendes Urteil gestatten.

Das Kulturverfahren — Bouillon, Agarplatte aërob und Zuckeragar anaërob bei 4—5-tägiger Beobachtung — sollte Aufschluß über die Abwesenheit anderweitiger Bakterienarten geben, während Glycerinagar- und Glycerinkartoffelkulturen mehrere Wochen bei Luftabschluß in der Dunkelheit bei 38° beobachtet, zur Züchtung der Tuberkelbacillen bestimmt waren. Auf den letztgenannten Nährböden aufgegangene Kulturen wurden zwecks Identifizierung mit dem Kochschen Tuberkelbacillus geprüft, und zwar nach ihrem langsamen Wachstum unter den genannten Bedingungen und nach ihrer Farbreaktion und ihrem morphologischen Verhalten.

Der Tierversuch endlich war bestimmt, Anhaltspunkte über den Virulenzgrad der zur Verimpfung gelangten Tuberkelbacillen zu geben. Zur Beurteilung des Tierversuches wurde einmal die genaue Sektion des Impftieres, weiter der genaue histologische Befund — Hämalauneosin- und Tuberkelbacillenschnitt — herangezogen. Zur Verimpfung wurde das Material mit Bouillon ohne Sand oder sonstige Fremdkörper verrieben. Die injizierte Menge schwankte zwischen 2 und 3 ccm.

Zur Untersuchung wurden Tuberkelbacillenstämme verschiedener Herkunft herangezogen, und zwar:

1) Von einer bronchialen Lymphdrüse — schwielige Tuberkulose — eines Sektionsfalles vom 10. Dezember 1903 wurde ein Meerschweinchen subkutan geimpft. Dessen vergrößerte, von kleinsten Tuberkeln gleichmäßig durchsetzte Milz bildete das Ausgangsmaterial der Reihe I.

2) Von einem Falle allgemeiner Tuberkulose, wie sie von einer Reihe von Autoren — es sei nur auf Grawitz, Askanazy etc. hingewiesen — beobachtet und von Paltauf und Sternberg in neuerer Zeit des näheren beschrieben und auf die Wirkung schwachvirulenter Bacillen zurückgeführt wurden, wurde ein Tier mit Material aus den Halslymphdrüsen subkutan geimpft, dessen gleichmäßig von miliaren Tuberkeln durchsetzte Milz zur Verarbeitung in Reihe II verwendet. In Reihe III erscheint das Netz des mit Material von der tuberkulös veränderten Lunge des gleichen Falles intraperitoneal geimpften Meerschweinchens verarbeitet. Zum Ausgangsobjekt der Reihe IV wurde die mit miliaren Tuberkeln gleichmäßig durchsetzte Milz des Impftieres herangezogen, das mit Material der III. Reihe geimpft worden war, welches Material 9 Tage (1. Probe) im Brutofen in feuchter Kammer geweilt hatte,

3) Mit Kulturmaterial — 4. Generation eines aus einer bronchialen Lymphdrüse mit chronischer Tuberkulose auf Glycerinkartoffel gezüchteten Stammes — wurde ein Meerschweinchen intraperitoneal geimpft. Milz und Leber dieses Impftieres waren gleichmäßig von miliaren Tuberkeln durchsetzt und bildeten das Ausgangsmaterial in Reihe V. Zu Reihe VI wurden die Milzen jener Meerschweinchen benutzt, die mit Milzmaterial der Reihe V — vom 4. und 7. Tage resp. 1. und 2. Probe subkutan geimpft worden waren.

4) Aus den Halslymphdrüsen eines mit Material von einer lange Jahre fortgezüchteten Tuberkelbacillenkultur gefütterten Kaninchens wurde eine Tuberkelbacillenkultur gewonnen. Diese wurde an ein Meerschweinchen verimpft, dessen Milz, verkäste Bronchiallymphdrüsen und verkäster Knoten der Infektionsstelle in Reihe VII verwendet.

Nunmehr wollen wir die ausführlichen Protokolle der einzelnen Versuchsreihen wiedergeben.

Stamm 1.

I. Reihe.

(Objekte bei 38° in feuchter Kammer gehalten.)

Die verimpfte Bronchiallymphdrüse zeigte histologisch peripher fibröse, zentral verkäste Tuberkel.

Kultur. Befund aus derselben:

Bouillon: diffuse Trübung, Indol positiv.

Agarstrich: Staphyl. alb., Bacter. coli.

Zuckeragar anaërob: Vergärung Tuberkelbacillenkulturen (Glycerinagar) erfolglos.

Sektionsbefund des Impftieres: getötet 65. Tag (13. Febr. 1904, zugleich Sektionsbefund des Impftieres der frischen Probe):

Käsiges Infiltrat der Injektionsstelle, Schwellung und eingesprengte kleine Käseherde in den beiderseitigen Inguinallymphdrüsen, Schwellung mit einzelnen kleinen Knötchen und Käseherden der Mesenterial-, Bronchial- und Halslymphdrüsen, großes Netz makroskopisch frei von Veränderungen, Milz auf das Vierfache vergrößert, blutreich, von zahllosen dichtstehenden kleinsten Knötchen durchsetzt, Leber vergrößert mit zahlreichen konfluierenden Käseherden, in den Lungen mäßig reichlich graue Knötchen in unregelmäßiger Verteilung.

Die Milz wurde in 7 annähernd gleich große Stücke geteilt, eins hiervon sofort verarbeitet (frische Probe), die anderen 6 unter den oben angeführten Kautelen in den Brutofen gegeben.

Frische Probe (fr. Pr.) 13. Febr. 1904.

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Die Milz von zahllosen dichtstehenden Epitheloidzellentuberkeln mit einzelnen Riesenzellen durchsetzt, die Tuberkel meist mit kleinen verkästen Zentrum.

Spärliche Tuberkelbacillen in den Tuberkeln einzeln und zu zweien als leuchtend rot gefärbte nicht segmentierte schlanke Stäbchen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch: s. o.

1. Probe, entnommen am 4. Tag (17. Febr. 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Ziemlich reichliche, bald einzeln, häufiger zu zweien liegende, deutlich rot gefärbte Bacillen, die zumeist stark segmentiert erscheinen. An einzelnen wenigen Stellen liegen 3—4 Paare von Bacillen ziemlich dicht beieinander in den Tuberkeln.

3) Kultur. Befund: durchweg steril.

4) Tierversuch (älteres kräftiges Tier).

Sektionsbefund 26. Tag (24. März 1904): Subkutan rechte Bauchseite. Verkästes Infiltrat der Injektionsstelle, Verkäsung der rechtsseitigen Inguinallymphdrüsen, Lymphdrüse am rechten Muscul. psoas, sowie die Lymphdrüsen des Bauchraumes geschwollen, braune Atrophie der inneren Organe, Marasmus. Deckglas aus den verkästen Partien: zahlreiche leuchtend rot gefärbte unsegmentierte Stäbchen.

Kultur auf Tuberkelbacillen steril.

Histologischer Befund: Die Milz enthält keine auf Tuberkulose verdächtigen Herde. In der geschwollenen Drüse von der Gegend des Musc. psoas fanden sich an einer Stelle in einem Lymphsinus, der von lymphoiden Zellen dicht erfüllt war, einige kleine Häufchen protoplasmareicher Zellen mit bläschenförmigem Kern. Tuberkelbacillen waren hier spärlich, nicht segmentiert, deutlich rot nachweisbar.

2. Probe, entnommen am 9. Tage (22. Febr. 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: analog 1. Probe.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch (älteres kräftiges Tier).

Sektionsbefund 24. Tag (17. März 1904): Subkutan rechte Bauchseite. Braune Atrophie der inneren Organe, Marasmus, Inguinallymphdrüsen beiderseits etwas geschwollen.

Histologischer Befund: Die geschwollenen Inguinallymphdrüsen zeigen keine Veränderungen, die einen Verdacht auf Tuberkulose rechtfertigen könnten. Follikel sind in den Lymphdrüsen nicht zu unterscheiden.

Tuberkelbacillen konnten nicht nachgewiesen werden.

3. Probe, entnommen am 16. Tage (29. Febr. 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Die Bacillen sind vielfach blaßrot gefärbt, sonst gleich beschaffen wie in Probe 1 u. 2.

3) Kultur. Befund: Staphyl. albus (spärlich) auf Bouillon, Agarplatte und in Zuckeragar, Glycerinagar steril.

4) Tierversuch (älteres kräftiges Tier).

Sektionsbefund 90. Tag (28. Mai 1904): Intraperitoneal. Tier gesund und kräftig, im großen Netz 2 kleine Knötchen.

Histologischer Befund: Das eine besteht fast durchweg aus großen protoplasmareichen Zellen, die durchaus 2 und mehrere Kerne in unregelmäßiger Anordnung besitzen. Das zweite Knötchen erwies sich als ein kleines Lymphknötchen.

Tuberkelbacillen konnten nicht nachgewiesen werden.

4. Probe, entnommen am 23. Tage (7. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: In dieser Probe größere Tuberkel mit starker Verkäsung. Tuberkelbacillen sind hier reichlich zu finden, und zwar oft zu dreien und auch mehreren. Auch kleinere dichtstehende Gruppen sind stellenweise zu konstatieren. Deutlich rot gefärbt, sind die Bacillen durchwegs segmentiert.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch (junges Tier).

Sektionsbefund 19. Tag (20. März 1904): Intraperitoneal. Diffuse, eitrig fibrinöse Peritonitis, akuter Tumor der Milz, großes Netz stark verdickt, ödematös, an der Injektionsstelle ausgedehnte Hämorrhagie mit Verlötung des Darmes an der Serosa der vorderen Bauchwand.

Histologischer Befund: Netz und Bindegewebe der Pankreas stark ödematös, vielfach zahlreiche polynukleäre Leukocyten enthaltend. An der Oberfläche des großen Netzes vielfach Fibringerinnsel mit eingelagerten polynukleären Leukocyten.

5. Probe, entnommen am 27. Tage (9. März 1904).

1) Deckglas: Mäßig reichlich blaßrot gefärbte, zumeist segmentierte Bacillen einzeln und zu zweien.

2) Histologischer Befund: analog 3. Probe.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch (junges Tier).

Sektionsbefund 19. Tag (28. März 1904): Subkutan rechte Bauchseite. Tot aufgefunden. Braune Atrophie der inneren Organe, leichte Schwellung der Inguinal- und Bauchlymphdrüsen.

Histologischer Befund: Die Lymphdrüsen erweisen sich mikroskopisch unverändert.

6. Probe, entnommen am 30. Tage (12. März 1904).

1) Deckglas: analog 5. Probe.

2) Histologischer Befund: analog 5. Probe.

3) Kultur. Befund: Bouillon Staph. alb., sonst steriles Ergebnis der Kulturen.

4) Tierversuch (junges Tier).

Sektionsbefund 77. Tag (28. Mai 1904): Intraperitoneal. Tier in gutem Ernährungszustand, im großen Netz mehrere feine rundliche Knötchen.

Histologischer Befund: Die Knötchen sind aus dichtliegenden protoplasmareichen Zellen gebildet, die einen bis mehrere bläschenförmige Kerne enthalten. Mit der Zahl der Kerne nimmt die Zelle an Größe zu, und erscheinen dann die Kerne meist randständig um das mit Eosin gleichmäßig rot gefärbte Zentrum der Zellen gelagert, manchmal jedoch liegen die Kerne auch zentral dicht beieinander. Im Lymphknötchen des großen Netzes waren ebenfalls gleichartige Zellen unregelmäßig verteilt.

Tuberkelbacillen ließen sich nicht nachweisen.

In der frischen Probe waren die Tuberkelbacillen in den teilweise verkästen Tuberkeln ziemlich gleichmäßig verteilt, nur in spärlicher Zahl nachweisbar. Die Bacillen lagen einzeln und zu zweien, waren durchwegs unsegmentierte, schlanke Stäbchen, und zeigten einen leuchtend roten Farbenton. Nach 4 Tagen (1. Probe) fanden sich Bacillen als stark segmentierte, deutlich rot gefärbte Stäbchen in weitaus reichlicherer Zahl als in der frischen Probe in den Tuberkeln eingeschlossen. Die Bacillen lagen zu zweien und mehreren dicht beieinander. In den weiteren Proben änderten die Bacillen ihr Verhalten nur insoweit, als bei gleicher starker Segmentierung ihr Farbenton blasser rot wurde. An Zahl kamen sie ungefähr den Bacillen der frischen Probe gleich, wie sie auch stets nur in den Tuberkeln zu finden waren.

Kulturen auf Tuberkelbacillen hatten ein negatives Ergebnis. (Die Nährböden der 3. Probe durchwegs, die Bouillonkultur der 6. Probe waren durch Staphyl. alb. verunreinigt. Da in den entsprechenden Schnittpräparaten keine Mikroorganismen außer Tuberkelbacillen gefunden wurden, müssen die Mikroorganismen erst bei der Verarbeitung der Proben nach Entnahme aus dem Brutofen in das Material gelangt sein. Die aufgegangenen Staphylokokkenkolonieen waren nur in spärlicher Zahl vorhanden.)

Die Bacillen der frischen Proben hatten eine allgemeine Tuberkulose beim Impftier hervorgerufen — Epitheloidzellentuberkel mit Riesenzellen und Verkäsung, Bacillenbefund der frischen Probe. — Am 4. Tage ergab die subkutane Verimpfung des Materials am Meerschweinchen ein verkästes Infiltrat der Injektionsstelle mit Tuberkulose der regionären Lymphdrüsengruppe — Epitheloidzellentuberkel mit Riesenzellen und Verkäsung, in den Tuberkeln leuchten rot gefärbte, nicht segmentierte Bacillen in mäßiger Zahl — ferner außer Marasmus des Impftieres keine Veränderungen. Das Impftier der Probe vom 9. Tage zeigte bei subkutaner Impfung außer leichter Schwellung der regionären Lymphdrüsengruppe — keine spezifisch tuberkulösen Veränderungen — und Marasmus nichts Pathologisches. Die intraperitoneale Verimpfung der Proben vom 16. und 30. Tage ergab Knötchenbefunde im großen Netz bei sonst kräftigen, gut genährten Tieren — epitheloide und Riesenzellen, nirgends Verkäsung, vom Rande aus eindringende Kapillargefäße, keine Bacillen. Die subkutane Verimpfung vom 27. Tage (5. Probe) ergab an dem gut genährten Impftier keine tuberkulösen Veränderungen. Ein Tier, geimpft mit Material vom 23. Tage (4. Probe) ging bei intraperitonealer Injektion an eitrig fibrinöser Peritonitis (Darmverletzung) zu Grunde.

Stamm 2.

II. Reihe.

(Objekte bei 38° in feuchter Kammer gehalten.)

Die verimpfte Halslymphdrüse des Sektionsfalles zeigte bei starker Vergrößerung zahlreich eingesprengte Käseherde.

Kultur. Befund aus derselben: Bouillon, Agarstrich, Zuckeragar anaërob, sowie Glycerinagar und Glycerinkartoffel blieben durchweg steril.

Sektionsbefund des Impftieres 62. Tag (17. Febr. 1904, zugleich Sektionsbefund des Impftieres der frischen Probe): Käsiges Infiltrat der Injektionsstelle, Schwellung und Verkäsung der rechtsseitigen inguinalen Lymphdrüsen, die Milz auf das ca. 15fache vergrößert, weich, blutreich, von zahllosen kleinsten Knötchen durchsetzt, in der Leber zahlreiche konfluierende verkäste Herde von unregelmäßiger Gestalt, in der Lunge spärlich graue Knötchen, die Lymphdrüsen des Bauch- und Brustraumes geschwollen, in denselben zahlreiche kleinste Knötchen, Marasmus.

Im Tuberkelbacillenschnitt sind nur sehr spärliche, stark segmentierte und schwach gefärbte Bacillen nachweisbar.

Die Milz wurde in 6 Teile zerlegt, ein Stück sofort verarbeitet, die 5 übrigen Teilstücke in den Brutofen bei 38° gegeben.

Frische Probe 17. Febr. 1904.

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Zahlreiche dichtstehende Tuberkel mit Verkäsung, in den meisten Tuberkeln zahlreiche Riesenzellen und wechselnde Zahl von Leukocyten. Tuberkelbacillen fanden sich nur sehr spärlich — an einer Stelle ein unsegmentiertes, an einer weiteren ein segmentiertes Stäbchen, beide deutlich rot gefärbt in Tuberkeln.

3) Kultur. Befund: Staphyl. albus in Bouillon, auf Agarplatte und in Zuckeragar sowie auf Glycerinagar. Auf Glycerinkartoffel zeigten sich nach 4 Wochen 6—8 kleine trockene Kolonieen aus deutlich die Farbreaktion der Tuberkelbacillen gebenden unsegmentierten Bacillen.

4) Tierversuch: s. o.

1. Probe, entnommen nach 48 Stunden (19. Febr. 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: In einem Gesichtsfeld fanden sich 2 segmentierte, gut gefärbte Bacillen in einem Tuberkel.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch: 24. Tag (14. März 1904).

Sektionsbefund: Subkutan, rechte Bauchseite (seit 12 Tagen deutlich fühlbare Inguinaldrüsen). Verkästes Infiltrat der Injektionsstelle, Verkäsung der bohnengroßen rechtsseitigen Inguinallymphdrüsen, Milz geschwollen, blutreich, in Milz, Leber und Lungen feinste Knötchen.

Deckglas aus verkästen Partieen: Zahlreiche leuchtend rot gefärbte, mehrfach segmentierte Bacillen.

Histologischer Befund: Die inguinalen Lymphdrüsen nur in ihren Randpartieen erhalten, sonst vollständig von zentral erweichten Tuberkeln eingenommen. Letztere sind in der Peripherie stark fibrös, während sie zentral dichte Anhäufungen polynukleärer Leukocyten und dazwischen zahlreiche Kerntrümmer enthalten. Auch sieht man zwischen den Zellen vielfach mit Eosin gleichmäßig gefärbte unregelmäßige Massen.

In Schnitten fanden sich sehr spärliche, stark segmentierte Bacillen.

Kultur. Befund: Injektionsstelle Glycerinkartoffel nach 3 Wochen zahlreiche feinste trockene Kolonieen, die in der Folge die ganze Kartoffel an der Impfseite überziehen, Bacillen von der Farbreaktion der Tuberkelbacillen.

2. Probe, entnommen am 9. Tage (25. Febr. 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Keine Bacillen aufgefunden.

3) Kultur. Befund: Sarcine auf Agarplatte und auf Glycerinkartoffel.

4) Tierversuch 4. Tag (1. März 1904): subkutan rechte Bauchseite.

Sektionsbefund: Marasmus, Magen kontrahiert. Das sehr junge und schwächliche Tier war seit der Injektion freßunlustig und ging am 5. Tage zu Grunde.

3. Probe, entnommen am 19. Tage (7. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Ein segmentiertes, schwach rot gefärbtes Stäbchen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 31. Tag (7. April 1904).

Sektionsbefund: Intraperitoneale Injektion. Starker Marasmus, braune Atrophie der inneren Organe, Magen kontrahiert. Darmschleimhaut atrophisch, Mesenteriallymphdrüsen etwas vergrößert, in der Leber zahlreiche feinste weiße Pünktchen, starker Haarausfall am ganzen Körper.

Histologischer Befund: Die kleinen Leberknötchen stellen mikroskopisch Herde in der Leber dar, innerhalb deren die Leberzellen nekrotisch erscheinen, während zwischen denselben zahlreiche mono- und polynukleäre Leukocyten eingestreut sind.

Tuberkelbacillen fanden sich in diesen Herden nicht.

4. Probe, entnommen am 21. Tag (29. April 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Keine Bacillen auffindbar.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 48. Tag (29. April 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Marasmus, kleines grünliches Knötchen der Injektionsstelle, Inguinaldrüsen rechts etwas größer als links, braune Atrophie der inneren Organe, Magen kontrahiert, Haarausfall am ganzen Körper, Tier gleich dem von Probe 3 im Wachstum zurückgeblieben.

Histologischer Befund: Das subkutane Infiltrat setzt sich aus analogen Zellen zusammen, wie das Netzknötchen I. Reihe, 6. Probe, Tierversuch. Vom Rande sieht man gelegentlich eine Kapillare in das Infiltrat hineinziehen.

Tuberkelbacillen fanden sich in diesem Infiltrat nicht.

5. Probe, entnommen am 24. Tag (12. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: Keine Tuberkelbacillen aufgefunden.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 77. Tag (28. Mai 1904).

Sektionsbefund: Intraperitoneal. Im großen Netz ein kleines rundliches Knötchen, neben zwei länglichen grünlichen Herden.

Histologischer Befund: Ein Knötchen erwies sich als ein völlig verkäster Herd mit derb bindegewebiger Kapsel. Im verkästen Gewebe sind zahlreiche Kerne und Kerntrümmer zu sehen. Andere Knötchen wiederum bestehen aus Zellen, die jenen gleichen, wie sie das Netzknötchen I. Reihe, 6. Probe, Tierversuch aufwies.

Tuberkelbacillen konnten in diesen Herden nicht nachgewiesen werden.

Die Impftiere dieser Reihe waren durchweg sehr junge schwächliche Tiere, die alle seit der Injektion wenig fraßen, bis auf das Tier der 5. Probe, das bei der Sektion außer den beschriebenen Netzherden keine Veränderungen zeigte.

III. Reihe.

(Objekte bei 38° in feuchter Kammer gehalten.)

Dieselbe umfaßt Impfversuche mit 3 gleichfalls bei 38° steril in feuchter Kammer aufbewahrten Teilstücken des tuberkulös veränderten großen Netzes eines Meerschweinchens. Dasselbe war intraperitoneal mit verriebenen Lungenstückchen geimpft worden, die dem gleichen Obduktionsfalle entstammten, dessen Halslymphdrüsen zur Impfung des Meerschweinchens der II. Reihe benutzt wurden. Zur Beurteilung der frischen Probe wurde ein Stückchen Lunge mit eingelagerten Tuberkeln benutzt.

Sektionsbefund des Impftieres 72. Tag (27. Febr. 1904, zugleich Sektionsbefund des Impftieres der frischen Probe): An der Injektionsstelle findet sich ein flaches, hellergroßes, käsiges Infiltrat. Die Inguinallymphdrüsen beiderseits sind bohnengroß und verkäst, desgleichen die Lymphdrüsen des Bauchraumes und des Brustraumes, die Halsdrüsen sind geschwollen, jedoch ohne distinkte Herde. Die Milz enorm vergrößert, ist blutreich, von zahllosen bis hirsekorngroßen Tuberkeln durchsetzt, in der Leber sind gleichfalls zahllose verkäste, konfluierende Tuberkel vorhanden, in den Lungen sind zahlreiche kleinere und größere verkäste Tuberkel zu sehen. Das Netz, verdickt und verschrumpft, enthält zahlreiche verkäste Herde.

Histologischer Befund der Lungentuberkel: Dichtstehende, an Riesenzellen reiche Tuberkel mit teilweiser Verkäsung.

Tuberkelbacillen sind darin mäßig reichlich als deutlich rot gefärbte, meist segmentierte Bacillen einzeln oder zu zweien gelagert nachzuweisen.

Frische Probe 27. Febr. 1904 (Lunge).

1) Deckglas: nicht verwendbar.

2) Histologischer Befund: s. o.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch: s. o.

1. Probe, entnommen am 9. Tag (7. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.

2) Histologischer Befund: An Riesenzellen reiche Tuberkel mit stellenweise ausgedehnter Verkäsung. Teils sind die Tuberkel fibrös. Die Riesenzellen sind zumeist dicht erfüllt von eng aneinandergelagerten, intensiv gefärbten Kernen.

Tuberkelbacillen fanden sich sehr spärlich als einzelne stark segmentierte und blaßrot gefärbte Stäbchen.

3) Kultur. Befund: In Zuckeragar Vergärung (Coliart), sonst steril.

4) Tierversuch 52. Tag (28. April 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite Erbsengroßes, verkästes Infiltrat der Injektionsstelle, rechts in inguine, erbsengroße, völlig verkäste Lymphdrüsen, im großen Netz 4 hirse- bis hanfkorngroße, teilweise verkäste Knötchen, Milz auf etwa das 4fache vergrößert, gleichmäßig von hirsekorngroßen Tuberkeln durchsetzt, desgleichen hirsekorngroße Tuberkel in den Lungen, rechts am Muscul. psoas eine erbsengroße, zentral verkäste Drüse.

Milz dieses Impftieres zu Versuchsreihe IV verwendet.

Histologischer Befund: In den Inguinallymphdrüsen, dieselben fast völlig einnehmend, finden sich konfluierende, peripher fibröse Tuberkel, die zentral dichte Haufen mono- und polynukleäre Leukocyten enthalten. Zwischen denselben wie an der Peripherie dieser Zellenanhäufungen sieht man unregelmäßig gestaltete, mit Eosin gleichmäßig rot gefärbte Massen, die neben einzelnen Leukocyten zahlreiche Kerntrümmer enthalten. In die Mesenteriallymphdrüsen sind zahlreiche konfluierende Herde aus protoplasmareichen Zellen mit bläschenförmigem Kern eingelagert.

Tuberkelbacillen fanden sich sehr spärlich. Schwach segmentiert sind sie deutlich rot gefärbt.

2. Probe, entnommen am 11. Tag (9. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.
2) Histologischer Befund: analog 1. Probe.
3) Kultur. Befund: Diffuse Trübung in Bouillon, sonst steril.
4) Tierversuch 38. Tag (16. April 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Käsiges Infiltrat der Injektionsstelle, Verkäsung der rechtsseitigen, erbsengroßen Inguinallymphdrüsen, mäßige Vergrößerung der Milz, mit zahllosen Tuberkeln bis Hirsekorngröße, Tuberkel der Leber und der Lungen.

Deckglas aus den verkästen Partieen: Mäßig reichlich segmentierte Bacillen von der Art der Tuberkelbacillen.

Histologischer Befund: In den Inguinaldrüsen dichtstehende konfluierende Herde protoplasmareicher Zellen mit bläschenförmigem Kern.

Tuberkelbacillen sind mäßig reichlich als gut gefärbte, segmentierte Stäbchen zu sehen.

3. Probe, entnommen am 14 Tage (12. März 1904).

1) Deckglas: nicht verwertbar.
2) Histologischer Befund: wie in den vorigen Proben.
3) Kultur. Befund: Staphyloc. albus auf allen Nährböden.
4) Tierversuch 77. Tag (28. Mai 1904).

Sektionsbefund: Intraperitoneale Injektion. Tier ohne Veränderungen.

IV. Reihe.

(Objekte bei 38° in feuchter Kammer gehalten.)

Milz des Impftieres III. Reihe 1. Probe.

Dieselbe wurde in 7 Teile geteilt, eines der Teilstücke sofort verarbeitet, die anderen 6 Proben bei 38° in den Brutofen gestellt.

Frische Probe 28. April 1904, 11 Uhr Vormittags.

1) Deckglas: Sehr spärlich einzeln liegende, leuchtend rot gefärbte, zumeist unsegmentierte Bacillen.

2) Histologischer Befund: Zahlreiche kleinere und größere Tuberkel, die zumeist aus mehrkernigen Zellen bestehen, zentral in den größeren Tuberkeln mono- und polynukleäre Leukocyten sowie Kerntrümmer in verkästem Gewebe, nach außen zu Zellen von epitheloidem Charakter und vielfach mehrkernige Zellen.

Bacillen sind sehr spärlich, meist einzeln in der Randzone der zentralen, an Leukocyten reichen Partieen zu finden. Dieselben sind leuchtend rot gefärbt, einzelne segmentiert.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch s. III. Reihe, 1. Probe und IV. Reihe, frische Probe, histologischer Befund.

1. Probe, entnommen nach 6 Stunden (28. April 1904, 5 Uhr Nachmittags.)

1) Deckglas: Sehr spärliche, nicht segmentierte, gut gefärbte Bacillen.

2) Histologischer Befund: Keine Bacillen nachgewiesen.

3) Kultur. Befund: Bouillon, Agarplatte und Zuckeragarschüttelkultur steril, auf Glycerinkartoffel nach 3 Wochen feinste, spärliche, trockene Kolonieen, die nach 5 Wochen mehr gelbbraun und deutlich gewachsen sind. Bacillen von der Farbreaktion und dem Aussehen der Tuberkelbacillen. Schlanke, gut gefärbte, nicht segmentierte Stäbchen deutlich rot.

4) Tierversuch 7. Tag (3. Mai 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite (Tier während der Injektion sehr unruhig, so daß die Injektionsnadel in die Bauchhöhle eindrang. Wegen starker Hinfälligkeit wurde das Tier am 7. Tage nach der Injektion getötet), braune Atrophie der inneren Organe. Am Milzrand ein grauweißes Knötchen, zahlreiche Knötchen gleicher Art in der Leber, sehr spärliche Knötchen im rechten Lungenunterlappen, anscheinend auch solche in den Mesenteriallymphdrüsen, die wie sämtliche übrigen Lymphdrüsen leicht vergrößert sind. Injektionsstelle unverändert, großes Netz leicht verdickt, Magen kontrahiert, Marasmus. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Konservierung der Lebensfähigkeit und Virulenz der Mikroben im Markgewebe beim Austrocknen.

Vorläufige Mitteilung.

[Aus dem Bakteriologischen Institut in Kiew. Abteilung von Prof. W. Wysokowicz.]

Von **L. Czarnecka.**

Im Jahre 1902 gelang es Herrn Dr. Palmirski, aus dem Organismus eines Kaninchens, das nach der Infektion mit dem Blute eines scharlachverdächtigen Kranken zu Grunde ging, den Streptococcus zu züchten. Das dem Kaninchen entnommene Rückenmark wurde in einer Flasche mit trockenem Kali caust. hängen gelassen und auf diese Weise aufbewahrt. Da der genannte Forscher zu verschiedener Zeit Stückchen von dem Rückenmark auf Bouillon verimpfte, machte er die Beobachtung, daß auch nach 6-monatlichem Austrocknen der Streptococcus seine Lebensfähigkeit noch erhalten hatte.

Von diesem Rückenmark wurde Herrn Prof. W. Wysokowicz ein Stückchen geschickt, und auf seine Anregung hin unternahm ich die Nachprüfung dieses Mittels zur Konservierung auch anderer Arten von Mikroben. Zu diesem Zwecke wurden mehrere Kaninchen mit verschiedenen Mikroben geimpft. Nach dem Tode der Tiere wurde ihr Rückenmark in Flaschen mit trockenem Kali caustic. hängen gelassen und davon am nächsten Tage Abimpfungen auf Bouillon gemacht; wir wiederholten die Entnahme von solchen Proben nach je 2 Wochen.

Eine Reihe von Versuchen zeigte, daß der von Palmirski erhaltene Streptococcus auch nach 8-monatlichem Austrocknen im Rückenmark die Fähigkeit zum Wachstum besaß. Der Diplococcus Fränkels, dessen geringe Resistenz auf verschiedenen Nährböden genug bekannt ist, ließ sich aus dem ausgetrockneten Rückenmark innerhalb $7^1/_2$ Monate leicht weiterzüchten; später gelang der Nachweis des Mikroben nicht mehr. B. anthracis, der, wie bekannt, im Organismus keine Sporen bildet, behielt seine Wachstumsfähigkeit auch nach $6^1/_2$-monatlichem Austrocknen im Markgewebe; später waren die Abimpfungen erfolglos.

Wir stellten uns auch die Frage, ob ausschließlich die Marksubstanz hier von Bedeutung sei, oder ob die genannten Mikroben ihre Lebensfähigkeit auch in anderen Körpergeweben beizubehalten im stande seien. Zur Lösung dieser Frage bewahrten wir auf dieselbe Weise die Milz der zu Grunde gegangenen Kaninchen auf; dabei erwies sich, daß die Mikroben in der Milz ihre Lebensfähigkeit nicht so lange behielten. Der Diplococcus hörte nach 1 Monat zu wachsen auf, der Streptococcus nach $7^1/_2$ Monaten. Hieraus geht klar hervor, daß in der Marksubstanz besonders günstige Bedingungen zur Erhaltung der Lebensfähigkeit der Mikroben vorhanden sind.

Es ist von großem Interesse, daß auch die Virulenz der Mikroben nach der beschriebenen Methode sehr lange erhalten wird. Die letztere Eigenschaft ist aus den folgenden Beispielen ersichtlich: Der im Rückenmark $8^1/_2$ Monat lang aufbewahrte Streptococcus besaß die Fähigkeit, Kaninchen innerhalb 36 Stunden zu töten, der Diplococcus in

18 Stunden nach 6-monatlichem Austrocknen, B. anthracis in 24 Stunden, auch nach 6 Monaten.

Bemerkenswert zeigen sich auch die folgenden von uns gemachten Beobachtungen bezüglich des Wachstums der Mikroben. Der Diplococcus, über den wir bei unseren Versuchen verfügten, stammte aus einem Falle von Pneumonie mit letalem Ausgang. Bei sehr bedeutender Virulenz für Kaninchen wuchs er auf den gewöhnlichen Nährböden — Agar und Bouillon — sehr spärlich, manchmal sogar gar nicht. Nach dem Aufbewahren im Rückenmark nahm seine Lebensfähigkeit deutlich zu und auf denselben Nährböden war immer ein üppiges Wachstum zu beobachten. Von nicht lange im Markgewebe gehaltenen B. anthracis konnten wir Kulturen mit zahlreichen Sporen züchten, nach 6-monatlichem Austrocknen gelang die Weiterzüchtung nur mit Mühe (deutliches Wachstum zeigte sich auf dem Nährboden nur nach 4—5 Tagen), und die auf solche Weise hergestellten Kulturen waren fast sporenlos.

Unsere Versuche mit dem ausgetrockneten Rückenmark sind noch im Gange, doch dürften die schon erzielten Resultate für ausreichend genug gehalten werden, um die beschriebene Methode der Konservierung einiger wenig widerstandsfähiger Mikroben zum allgemeinen Gebrauch in den Laboratorien angelegentlichst zu empfehlen.

Nachdruck verboten.

Ueber ein akut wirkendes Bakterientoxin.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie in Wien (Vorstand: Prof. Paltauf).]

II.

Experimentelle Analyse der Giftwirkung.

Von Dr. **C. Julius Rothberger,** Assistenten am Institute.

Im nachfolgenden soll über die Wirkung eines akut wirkenden Bakterientoxins berichtet werden, welches Kraus[1]) beim Vibrio Nasik gefunden hatte. Ich habe mit der Kultur dieses Vibrios, welche mir Herr Privatdozent Kraus freundlichst überlassen hat, einige Versuche gemacht, um festzustellen, welche Organe in erster Linie von der Giftwirkung betroffen werden.

Die experimentelle Analyse der Wirkung eines Giftes begegnet nun viel größeren Schwierigkeiten, wenn dasselbe nicht einen einheitlichen Körper darstellt, sondern aus einer Reihe von Substanzen besteht, von welchen jede eine selbständige Wirkung auf den Organismus ausüben kann, und das ist ja bei einer Bakterienkultur der Fall, in welcher sehr viele, ihrer Natur nach großenteils unbekannte Substanzen enthalten sind. Es wird daher nach der Einführung einer akut wirkenden Kultur in den Tierkörper ein sehr vielgestaltiges Vergiftungsbild entstehen können und wir dürfen von vornherein nicht erwarten, die Angriffspunkte der Giftwirkung so klar zu erkennen, wie nach der Anwendung eines chemisch einheitlichen Körpers. Insbesondere ist die Möglichkeit zu erwägen, daß bei einer schwächer wirken-

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903. p. 488.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

den Kultur, welche erst nach längerer Zeit tötet, ganz andere Gifte zur Wirkung gelangen und das Vergiftungsbild bestimmen können, als bei den Kulturen von starker Toxizität und kürzester Inkubation. Tatsächlich habe ich bei meinen Versuchen, welche sich aus äußeren Gründen über einen sehr langen Zeitraum erstreckten, Kulturen von sehr wechselnder Wirksamkeit angewendet und dementsprechend nicht unbedeutende Abweichungen von dem am häufigsten vorkommenden Krankheitsbilde beobachtet. Auf diese werde ich am Schlusse meiner Ausführungen noch kurz zurückkommen.

Ich habe die Versuche an Kaninchen und Hunden angestellt und ausschließlich die intravenöse Injektion von 10- und mehrtägigen Bouillonkulturen angewendet, da ja schon Kraus festgestellt hatte, daß die bakterienfreien Filtrate ebenso wirken wie Bouillonkulturen und daß nur nach intravenöser Injektion der charakteristische rasche Eintritt der Giftwirkung zu beobachten ist.

Injiziert man einem kleinen Kaninchen $^1/_2$—1 ccm einer stark toxischen Bouillonkultur in die Ohrvene, so zeigen sich schon nach 5 bis 10 Minuten Zeichen einer allgemeinen Hinfälligkeit: das Tier stützt den Kopf auf die Unterlage, streckt die Extremitäten von sich und bald sinkt der Kopf zur Seite, das Tier liegt wie gelähmt da. In diesem Stadium ist die Atmung kaum verändert. Von Zeit zu Zeit rafft sich das Tier plötzlich auf, hebt den Kopf und sitzt wie vor der Injektion, aber sehr bald sinkt der Kopf wieder herab und es stellt sich die frühere Prostration wieder ein. Jetzt ist meist auch die Atmung verlangsamt, stoßweise, die erhöhte Mitbeteiligung der auxiliären Hilfsmuskeln verrät den Eintritt der Dyspnoë. Diese nimmt nun immer mehr zu, die Atemfrequenz und -tiefe nimmt gradatim ab und endlich erfolgt — 3—30 Minuten nach der Injektion — der Tod, welchem manchmal sehr heftige, von Schreien begleitete Krämpfe vorhergehen; in anderen Fällen fehlen diese und man beobachtet nur, daß sich das Tier kurz vor dem Tode noch einmal für kurze Zeit aufrafft. Oeffnet man sofort den Thorax, so findet man ein maximal dilatiertes, fast immer von flüssigem Blute gefülltes Herz, welches oft noch ganz oberflächliche Pulsationen ausführt. Der Cornealreflex bleibt bis zum Tode erhalten und wird nur sub finem etwas träger. Nach dem Herzstillstande treten noch terminale Atemzüge auf.

Bei der Anwendung weniger toxischer Kulturen, welche erst nach 1—2 Stunden töten, beobachtet man im wesentlichen dieselben Erscheinungen. Die geringere Toxizität bedingt nur eine bedeutende Verlängerung der Inkubation, während welcher aber eine sehr konstante, bei rasch wirkendem Gift nicht vorkommende Darmwirkung eintritt. Dieselbe besteht in einer bedeutenden Steigerung der Peristaltik, welche am aufgebundenen Tier durch die Bauchdecken sichtbar ist, während sie beim nicht gefesselten Tier zur Entleerung anfangs feuchter Skybala, dann aber dünnbreiiger oder flüssiger, oft sehr übelriechender Fäkalmassen führt. Aus der Beschaffenheit der Entleerungen kann man schließen, daß dieselben zuerst aus dem Dick-, dann aus dem Dünndarm stammen, während das Coecum, welches beim Kaninchen bekanntlich stets mit breiigen Massen gefüllt ist, nicht zu erhöhter Tätigkeit angeregt zu werden scheint. Manchmal tritt, besonders nach Einverleibung größerer Mengen wenig toxischer Bouillonkultur, eine starke Harnentleerung in den Vordergrund, und dann kann die Darmwirkung entweder ganz fehlen oder nur zur Ausstoßung etwas feuchterer Skybala führen.

Diese eben beschriebene Darmwirkung, welche in ganz ähnlicher Weise auch bei anderen, der Choleragruppe zugehörigen Vibrionen auftritt, hat jedoch mit dem Gift, welches die rapide Wirkung des Vibrio Nasik bedingt, nichts zu tun. Vor allem zeigt es sich, daß der Zeitpunkt ihres Eintrittes — 40 Minuten bis 1 Stunde nach der intravenösen Injektion – unabhängig ist von der Toxizität der angewendeten Kultur, indem bei wenig giftigen Kulturen ein entsprechend längerer Zeitraum zwischen dem Auftreten der Darmentleerungen und dem Tode verstreicht, während es bei foudroyantem Verlauf überhaupt nicht zur Darmwirkung kommt. Außerdem zeigt sie keine wesentlichen Intensitätsunterschiede, welche mit der verschiedenen Giftigkeit der angewendeten Kultur in Zusammenhang gebracht werden könnten.

Die Dauer der Inkubation läßt sich durch steigende Giftmengen sehr bedeutend abkürzen; so trat bei einem 500 g schweren Kaninchen der Tod schon 2 Minuten nach der Injektion von 3 ccm stark toxischer Kultur ein, nachdem das Tier die verschiedenen Stadien der Vergiftung (Prostration, Dyspnoë, Krämpfe) in rapider Aufeinanderfolge durchgemacht hatte. Die Sektion zeigte auch hier nur ein stark dilatiertes, mit flüssigem Blut gefülltes Herz, nach dessen Eröffnung noch die terminalen Atemzüge erfolgten.

Zur weiteren Analyse der Erscheinungen, welche schon nach oberflächlicher Beobachtung auf den Respirations- oder Zirkulationsapparat zu beziehen waren, ging ich nun vor allem daran, den Ablauf der Vergiftung am Kymographion zu studieren, wobei der Blutdruck und die spontane Atmung verzeichnet wurden.

Was zunächst die Atmung anbelangt, so zeigt dieselbe unmittelbar im Anschlusse an die Injektion keine Veränderung; wenige Minuten nach der Einverleibung der Kultur tritt oft eine mäßige Beschleunigung der Respiration ein, welche aber bald vorübergeht und überdies keineswegs konstant ist. Die typische Dyspnoë, welche auch am nicht gefesselten Tier stets deutlich zu sehen ist, setzt nach Ablauf der Inkubation ziemlich plötzlich ein, indem zuerst eine starke, rasch fortschreitende Abnahme der Frequenz, dann auch der Tiefe der Atemzüge auftritt, während welcher das Tier zunächst Unruhe, dann typische Erstickungskrämpfe aufweist, welche in kürzester Zeit zum Tode führen.

Der Blutdruck zeigt meist bis zum Eintritt der Dyspnoë keine nennenswerte Veränderung; eine zeitlich mit der Beschleunigung der Respiration zusammenfallende Steigerung des Blutdrucks kann oft beobachtet werden, ist aber ebenfalls nicht konstant und kann bei beschleunigter Atmung fehlen. Mit dem Eintritt der Dyspnoë zeigt der Blutdruck starke Schwankungen, welche zum Teil wohl auch der Unruhe des Tieres zuzuschreiben sind; eine typische dyspnoische Steigerung des Blutdrucks tritt aber nicht ein, vielmehr beginnt derselbe stetig zu sinken, um kurze Zeit nach dem Aufhören der Atmung, jedoch noch vor den terminalen Atemzügen, die Abscisse zu erreichen.

Dieser Verlauf der Vergiftung schien ziemlich deutlich auf eine primäre Schädigung der Respiration, wahrscheinlich zentraler Natur, hinzuweisen; aber schon die nächsten Versuche zeigten die Irrigkeit dieser Annahme, mit welcher schon der Umstand nicht in Einklang zu bringen war, daß die Einleitung der künstlichen Atmung im Stadium des fortschreitenden Blutdruckabfalles nur in wenigen Ausnahmefällen im stande war, den Eintritt des Todes hinauszuschieben. Ferner zeigte es sich, daß der Tod beim kuraresierten, von vornherein künstlich geatmeten Tier nicht später eintrat als sonst, so daß nun an eine wesentliche Wirkung des Giftes auf das Atemzentrum nicht mehr zu denken war. Am kuraresierten Tier trat nun die Wirkung auf die Kreislaufsorgane reiner zutage: Die dem stetigen Druckabfall vorangehende Steigerung gehört hier zu den typischen Erscheinungen; wir müssen sie also für wesentlich halten und annehmen, daß sie beim spontan atmenden Tier aus irgendwelchen unbekannten Gründen verdeckt wird. Regelmäßig beobachtet man ferner am kuraresierten Tier, daß zu der Zeit, wo der Druck eben abzusinken beginnt, das Pulsbild sehr undeutlich wird und bald ganz verschwindet. Die Ursache hierfür konnte in vielen Fällen in ausgedehnter Blutgerinnung erblickt werden, welche oft eine auffallende Beschleunigung durch die Injektion der Vibrionen erfährt. In anderen Fällen fehlte aber die Gerinnung und es konnte daher das Undeutlichwerden der Pulse nur einer Beeinträchtigung der Herzfunktion zugeschrieben werden. Dieselbe wurde um so wahrscheinlicher, als es sich zeigte, daß das bei beginnendem Druckabfall bloßgelegte Herz fast immer stark gebläht war und eine ohne weiteres augenscheinliche Verkleinerung des Schlagvolumens aufwies. Zum weiteren Studium dieser Herzwirkung verwendete ich vor allem die Registrierung der vier Herzabteilungen nach Knoll. Die Methode besteht darin, daß die Vorhöfe und Ventrikel des bloßgelegten Herzens mit je einem feinen Haken gefaßt werden, welcher durch einen langen, über Rollen laufenden Faden mit einem Schreibhebel verbunden ist, so daß jede Herzabteilung ihre Kontraktionen auf der berußten Fläche verzeichnet; an der Kurve ist nicht nur die Frequenz der Herzschläge, sondern auch die Größe der Exkursion jedes Schlages ersichtlich. Die mit dieser Methode angestellten Versuche ergänzen nun den schon bei der Inspektion des bloßgelegten Herzens erhobenen Befund dahin, daß die Verkleinerung der Ausschläge bei beginnender Blähung schon vor dem Abfall des Blutdrucks zuerst am rechten Herzen auftritt, während das linke Herz zunächst noch ungeschwächt weiterarbeitet und daher den Blutdruck vorderhand noch unverändert zu halten vermag. Bei zunehmender Blähung des rechten Ventrikels, welche zu einer Umwälzung des Herzens von rechts nach links führt, werden dann auch die Ausschläge des linken Herzens schwächer, und nun beginnt der Druck zu sinken. In anderen Fällen entwickelt sich die Blähung in beiden Herzhälften ziemlich gleichzeitig.

Wenn nun auch der Umstand, daß die Blähung und das Undeutlichwerden der Pulse stets vor dem Abfall des Blutdrucks auftreten, es sehr wahrscheinlich machte, daß diese beiden Veränderungen in kausalem Zusammenhange stehen, so mußte doch zur Sicherung dieser Annahme eine wesentliche Schädigung des Vasomotorenapparates ausgeschlossen werden. Dies gelang durch einige Versuche, in welchen die Injektion erst nach der Isolierung des Herz-Lungenkreislaufs nach Hering vorgenommen wurde und in welchen es sich zeigte, daß der Verlauf der Giftwirkung stets stark beschleunigt war; erklärt wird dieser raschere Verlauf durch die infolge der Einschränkung des Stromgebiets relativ größere Konzentration des im Blute kreisenden Giftes. Da nun bei der Isolierung des Herz-Lungenkreislaufs nicht nur die Aorta, sondern auch alle Hirnarterien abgesperrt wurden, das Gift also nicht ins Zentralnervensystem gelangen konnte, so ist damit zugleich erwiesen, daß dieses letztere an der Vergiftung keinen wesentlichen Anteil hat.

Die Annahme, daß die Giftwirkung unserer Vibrionenkultur in erster

Linie das Herz betreffe, wurde endlich dadurch zur Gewißheit erhoben, daß alle jene Eingriffe, welche bei intaktem Herzen eine Steigerung des stark gesunkenen Druckes zur Folge haben, hier fast wirkungslos waren. Die Kompression der Aorta descendens, insbesondere aber die Kontraktion der peripheren Gefäße nach Injektion von Adrenalin ergaben nur schwache, allmählich sich entwickelnde Drucksteigerungen, ja ich konnte sogar in einem Falle ein Herz durch Kompression des Unterleibes zum Stillstand bringen — ein Zeichen hochgradiger Schädigung des Herzens, welches den durch den vermehrten Blutzufluß erhöhten Anforderungen nicht mehr gewachsen war und in maximaler Blähung seine Tätigkeit einstellte.

War somit die Herzwirkung des Vibrionengiftes über jeden Zweifel sichergestellt, so war doch noch die Frage zu beantworten, welcher Natur diese Giftwirkung sei. Hier lenkte nun vor allem die oft eintretende Beschleunigung der Blutgerinnung meine Aufmerksamkeit auf sich. Dieselbe ist in den entsprechenden Fällen so in die Augen springend, daß eine Täuschung ausgeschlossen ist. Ich habe zu wiederholten Malen schon wenige Minuten nach der Injektion der Kultur die in die Carotis eingebundene Kanüle mit einem festen Gerinnsel ausgegossen gefunden und in mehreren Fällen beobachtet, daß das Herz, welches sofort post mortem eröffnet wurde, in beiden Abteilungen mit Gerinnseln vollständig ausgefüllt war, was besonders für das linke Herz einen ganz auffallenden Befund darstellt. Da es nun nahelag, diese Beschleunigung der Blutgerinnung, welche zeitlich mit dem Sinken des Blutdrucks zusammenfiel, mit der letalen Giftwirkung der Kultur in Zusammenhang zu bringen, so habe ich auch an Hunden nach vorangehender Peptoninjektion Versuche angestellt: diese letzteren sowie die Erfahrung, daß man in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle sofort post mortem flüssiges Blut im Herzen vorfindet, schienen nun der Beschleunigung der Blutgerinnung jede Bedeutung für den letalen Verlauf zu nehmen. Doch zeigte die mikroskopische Untersuchung des Blutes, daß auch in Fällen, wo keine Beschleunigung der Gerinnung zu beobachten war, Veränderungen an den Erythrocyten auftreten können, welche als Vorstufen der Hämolyse aufzufassen sind. Man sieht, bei Hunde- häufiger als bei Kaninchenblut, mitten im normalen Blute hyalin aussehende Schollen schwimmen, welche aus zusammengebackenen roten Blutkörperchen bestehen, deren Konturen meist nicht mehr deutlich sichtbar sind. Tatsächlich hat ja auch Kraus festgestellt, daß der Vibrio Nasik ein Hämolysin bilde, und es ist begreiflich, daß die Peptoninjektion, welche die Gerinnung des Blutes verhindert, der Agglutination nicht vorbeugen konnte, da die hier in Frage kommenden Vorgänge ja ganz anderer Art sind. Außer diesen Beobachtungen wiesen aber auch andere Befunde auf die Bedeutung von Blutveränderungen hin: So findet man recht häufig streifenförmige Blutungen im Herzmuskel sowie unter dem Endocard, dann auch hämorrhagische Infarkte der Lunge. Diese offenbar sekundär durch die Veränderungen des Blutes bedingten Vorgänge im Gewebe brauchen zu ihrer Entstehung eine gewisse Zeit und finden sich daher meist nicht in den rapid in wenigen Minuten verlaufenden Fällen. Es war nun nicht unwahrscheinlich, daß das in seinen morphologischen Elementen geschädigte Blut die Lungenkapillaren verstopfen und so auf rein mechanische Weise durch enorme Erhöhung der Widerstände im kleinen Kreislauf eine Lähmung des Herzens herbeiführen konnte. Dafür sprach ja auch die Beobachtung des bloßliegen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

den Herzens, welche zeigte, daß fast immer das rechte Herz früher gebläht wurde als das linke; das zu gleicher Zeit eintretende unaufhaltsame Sinken des Blutdrucks konnte auf den verminderten Zufluß zum linken Herzen zurückgeführt werden.

Ich schritt daher zur histologischen Untersuchung der Lungen. Dieselbe zeigte vor allem, daß in den rasch verlaufenden Fällen das Lungengewebe wenig verändert war; die Alveolen lufthaltig, manchmal nur spärliche Gerinnsel und wenig abgestoßene Epithelien enthaltend. Bei einigen Präparaten fiel hochgradige Hyperämie auf, so daß selbst die Kapillaren stark gefüllt erschienen, dabei waren die Arterien so stark kontrahiert, daß ihr Lumen fast ganz verschwunden war. Das in den größeren Gefäßen befindliche Blut zeigte stets deutliche Veränderungen; dieselben betrafen hauptsächlich die Erythrocyten, welche stellenweise derart zu homogenen Massen verquollen waren, daß man ihre Konturen nicht unterscheiden konnte. In einem Falle sah man nur ganz ausnahmsweise deutlich erhaltene rote Blutkörperchen. Außerdem finden sich in den größeren Gefäßen neben fädigen Fibringerinnseln fast immer körnig krümelige Massen, welche einen großen Teil des Gefäßinhaltes bilden und oft das Erkennen der noch erhaltenen roten Blutkörperchen verhindern.

Charakteristisch ist an diesen Blutveränderungen jedoch nur die Verquellung der roten Blutkörperchen zu ganz homogenen Schollen, welche oft den ganzen Gefäßquerschnitt ausfüllen (globulöse Thrombose). Die Schrumpfung der roten Blutkörperchen sowie das Ausfallen der körnig-krümeligen Massen neben den fädigen Fibringerinnseln findet sich auch nach anderen Todesarten und kann daher nicht als charakteristisch angesehen werden.

Ferner habe ich die Kultur in die Carotis herzwärts injiziert, so daß sie, mit dem Aortenblute gemischt, vor allem die Kapillaren des großen Kreislaufs zu passieren hatte. Ich nahm dabei an, daß die im strömenden Blute gebildeten Schollen in den Kapillaren stecken bleiben würden, und daß das Tier am Leben bleiben müßte, wenn wirklich nur die Häufung der hyalinen Schollen in den Lungengefäßen die Ursache des Todes wäre. Das Tier ist aber trotzdem nach 50 Minuten gestorben; diese Verzögerung des Todes ist wohl dem Umstande zuzuschreiben, daß das Gift in größerer Verdünnung zur Wirkung kam, da es mit dem gesamten Blute gemischt war, während bei der Injektion in die rechte Jugularis das Gift in viel größerer Konzentration direkt in das Herz gelangt. Die histologische Untersuchuug der Lunge zeigt denselben Befund wie die der anderen Tiere.

Gegen die kausale Bedeutung der Blutveränderungen spricht ferner der Umstand, daß sie bei Tieren, welche in akuter Weise dem Gifte erlegen sind, auch vermißt werden können.

Um aber die Frage von der Bedeutung der Blutveränderungen sicher zu entscheiden, habe ich Versuche am überlebenden Katzenherzen gemacht, welches mit Lockescher Lösung (0,03 Proz. $NaHCO_3$, 0,042 Proz. KCl, 0,024 Proz. $CaCl_2$, 0,9 Proz. NaCl, 1 Proz. Dextrose) gespeist wurde. Trat auch hier, ohne Blut, die Giftwirkung zutage, so mußte wohl angenommen werden, daß die Blutveränderungen bei der letalen Wirkung der Kultur nicht die Hauptrolle spielen.

In die Aorta wird nach Ligatur der Kopfgefäße herzwärts eine Kanüle eingebunden; in diese tritt unter konstantem Druck von 100 mm Hg die Durchspülungsflüssigkeit ein; dabei werden die Semilunarklappen gestellt, die Flüssigkeit gelangt so nicht in den Ventrikel, sondern durchströmt die Koronargefäße und fließt aus dem rechten Vorhof nach außen. Den konstanten Druck liefert eine mit einem Reduktionsventil versehene Sauerstoffbombe, die Flüssigkeit wird also vor ihrem Eintritt in das Herz konstant von Sauerstoff durchströmt. Die Temperatur wird konstant auf 37—38° gehalten. Es wird nun zuerst das Herz reichlich mit reiner Lockescher Lösung durchspült und auf diese Weise gründlich von den zurückgebliebenen Blutresten befreit. Dann wird die mit der Bouillonkultur des Vibrio beschickte Locke-Lösung durch das Herz geleitet, und zwar werden 4—8 ccm einer 8—10-tägigen Bouillonkultur mit 500 ccm der Salzlösung verdünnt. Die Wirkung des Giftes war stets eine prompte: Schon $^1/_2$—1 Minute nach Beginn der Durchströmung wurden die Kontraktionen des Herzens kleiner und sistierten bald ganz, meist noch bevor die ganze Giftmenge das Herz passiert hatte. Zugleich mit der Abnahme der Schlaghöhe erfolgte eine deutliche Tonusherabsetzung, das Herz wurde schlaff. Nachträgliche Durchleitung reiner Locke-Lösung vermochte im allgemeinen nicht das Herz wieder zum Schlagen zu bringen, dagegen konnten fast immer durch Sistieren jeglichen Durchflusses kräftige und regelmäßige, allerdings nicht lange anhaltende Kontraktionen ausgelöst werden, welche bei neuerlicher Durchspülung selbst mit reiner Locke-Lösung sofort wieder aufhörten. Ihr Auftreten ist wohl auf einen der Anämie analogen Reiz zurückzuführen.

Sterile Bouillon, in derselben Menge und Verdünnung durch das Herz geleitet, bleibt entweder ganz wirkungslos oder führt zu einer Herabsetzung der Schlaghöhe, welche bei nachheriger Durchspülung mit reiner Locke-Lösung wieder ihre frühere Höhe erreicht. Wenn das einmal durchgeflossene Locke-Bouillongemisch zu wiederholten Malen durch das Herz geleitet wird, so kann es endlich auch unter fortschreitender Abnahme der Schlagintensität zum Herztode kommen.

Wenn es sich somit auch zeigt, daß die sterile Bouillon nicht ganz ungiftig für das Herz ist, so ist der Unterschied gegenüber einer toxischen Kultur des Vibrio Nasik doch so auffallend, daß man an der spezifischen Giftigkeit dieser letzteren nicht zweifeln kann.

Es liegt nun der Einwand nahe, daß die Wirkung der Bouillonkultur durch ihre korpuskulären Elemente bedingt sein könnte, welche rein mechanisch durch Verstopfung der Kapillaren der Kranzgefäße zum Stillstand des Herzens führen. Dagegen spricht jedoch der Umstand, daß die Kultur in einem Falle ganz wirkungslos war; die nach dem Versuche vorgenommene Injektion einer vorher entnommenen Probe des betreffenden Bouillonröhrchens ergab, daß die Kultur auch für Kaninchen bei intravenöser Injektion unschädlich war. Wahrscheinlich war diese Kultur verunreinigt. Zur Verstopfung der Herzkapillaren hätte sie jedoch ebenso Veranlassung geben müssen wie die wirksame Kultur.

Außerdem habe ich Versuche gemacht, in welchen ich 7—8-tägige Coli-Bouillonkulturen durch das Herz leitete, und hier nie andere Folgen gesehen, als sie auch nach Verwendung steriler Bouillon zur Beobachtung gelangen. Wir können somit sicher sagen, daß das Toxin des Vibrio Nasik ein Herzgift ist.

Ich möchte daher das Resultat meiner Untersuchungen dahin zusammenfassen, daß das Toxin des Vibrio Nasik den Organismus des Warmblüters in verschiedener Weise schädigt:

1) lähmt es das Herz und führt auf diese Weise schon nach wenigen Minuten zum Tode;

2) verändert es das Blut, indem es

a) dessen Gerinnbarkeit erhöht, und

b) zu einer hochgradigen Veränderung der roten Blutkörperchen führt, welche teils ihre Färbbarkeit verlieren und daher als Schatten in den Gefäßen erscheinen, teils zu homogenen Schollen verquellen, welche die Konturen der einzelnen Blutkörperchen nicht mehr erkennen lassen. Diese Schollen sind nicht nur in Proben des zirkulierenden Blutes, sondern auch insbesondere in Schnittpräparaten der Lunge nachzuweisen. Ein kausaler Zusammenhang zwischen den Veränderungen des Blutes und dem Tode der Versuchstiere ist nicht immer nachweisbar; dagegen wird man wohl die Blutungen im Myocard und unter dem Endocard sowie die hämorrhagischen Infarkte der Lunge auf sie zu beziehen haben.

3) Die dem Vibrio Nasik wie vielen anderen choleraähnlichen Vibrionen zukommende Darmwirkung steht in keinem Zusammenhang mit der tödlichen Wirkung des Toxins.

Von atypisch verlaufenden Fällen erwähne ich nur die folgenden:

Kaninchen 11. 600 g. Liegt 50 Minuten nach der Injektion von 1 ccm 12-tägiger Bouillonkultur platt auf dem Bauche mit nach hinten gestreckten Hinterextremitäten. Nach einer weiteren halben Stunde sucht das Tier auf den Vorderextremitäten fortzukriechen und zieht dabei den Hinterkörper nach. Nach einer weiteren halben Stunde ganz normal. Tod $50^1/_2$ Stunden nach der Injektion.

Kaninchen 15. 1000 g (am Kymographion). 23 Minuten nach der Injektion von 2 ccm 14-tägiger Bouillonkultur wird die Atmung plötzlich höchst unregelmäßig und selten, der Blutdruck steigt bei starker Pulsverlangsamung, dann treten Krämpfe auf, die Atmung hört auf und der Druck sinkt tief ab. Nun werden beide Vagi durchschnitten und die künstliche Atmung eingeleitet, worauf sich der Druck wieder hebt und die Spontanatmung wieder beginnt. Der Versuch wird nach einer Stunde bei ausreichender Spontanatmung abgebrochen.

Kaninchen 22. 900 g (am Kymographion). 28 Minuten nach der Injektion von 1 ccm Bouillonkultur beginnt plötzlich starke Dyspnoë bei rasch abnehmender Tiefe der Atemzüge, der Tod erfolgt wenige Minuten darauf. Der Blutdruck bleibt unverändert bis zum Eintritt der Dyspnoë, zeigt dann größere Schwankungen und sinkt erst nach Sistieren der Atmung zur Abscisse ab.

Der erste der angeführten Fälle legt den Gedanken an eine Embolie ins Rückenmark nahe, in den beiden anderen besteht eine deutliche primäre Wirkung auf die Respiration, indem bei Kaninchen 15 die künstliche Atmung lebensrettend wirkte, was sonst nie zu beobachten war, während bei Kaninchen 22 die Herzaktion ungewöhnlich lange den Respirationsstillstand überdauerte.

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen tierpathogenen Vibrio — Vibrio cardii.

Von **E. Klein** in London.

Während einer Reihe von Analysen über die Bakterien der Bivalven (Austern und Muscheln) habe ich in mehreren Fällen mittels des Drigalski-Conradischen Nähragars die auf diesem Nährboden aufkommenden blauen Kolonieen als Vibrionen erkannt, und kann ich die Angaben von Hirschbruch und Schwer (dieses Centralblatt, Band XXXIV. No. 6. p. 589, und Band XXXVI, No. 1. p. 144) über den hohen Wert des Drigalski-Conradi-Nähragars zur Isolierung der Vibrionen im allgemeinen bestätigen. Die Vibrionen, die ich aus Muscheltieren auf diese Weise isolierte — ich benutze den Nähragar genau nach der Drigalski-Conradischen Formel — gehören zwei verschiedenen Arten an:

1) Ein die Gelatine nicht verflüssigender, nicht pathogener Vibiro: Deutliche Kommaformen, S-Formen und kurze Spirillen, ausgesprochen beweglich, 1—3 Geißeln an einem Ende. Auf der Gelatine bildet er eine durchscheinende Auflagerung; im Peptonsalzwasser ist das Wachstum beschränkt und langsam, nach mehreren Tagen kein Oberflächenhäutchen, kein Nitroso-Indol. Dieser Vibrio bildet runde kleine, himmelblaue Kolonieen auf dem Drigalski-Conradi-Nähragar, und wurde derselbe einmal aus einer Muschel — *Mytilus myosus,* mehrere Male aus Kloakenjauche, zweimal aus den in beschmutztem Seewasser gelegenen Austern isoliert.

2) Aus einer Herzmuschel — *Cardium edule*, wurde ein Vibrio isoliert, der die Gelatine verflüssigt; in dieser Fähigkeit hält er ungefähr die Mitte zwischen dem Vibrio cholerae und dem Vibrio Finkler, nähert sich dem ersteren mehr als dem letzteren, auch ist die verflüssigte Gelatine weniger trübe als beim letzteren. Die Stichgelatine zeigt dieselbe trichterförmige Einziehung wie beim Choleravibrio. Die Kolonieen auf dem Drigalski-Conradi-Nähragar sind blau, rundlich, im Centrum erhaben, flach am Rande also konisch; wo sie spärlich gelagert sind, erreichen sie in 2—3 Tagen den Durchmesser von mehreren Millimetern. Die eine solche Kolonie zusammensetzenden Individuen sind gut kommaförmig, manche S-Formen und kurze Spirillen, sind etwas kleiner als die Choleravibrionen. In den meisten anderen Nährmedien: Gelatine, gewöhnlicher Nähragar, Bouillon, Peptonsalzwasser, Blutserum sind die Vibrionen während der ersten Tage sehr klein, wenig gekrümmt, außerordentlich beweglich — 1—2 kurze Flagellen an einem Ende; später nehmen sie die typische Kommaform sowie die eines S mehr nach dem Muster der auf dem Drigalski-Conradi-Nähragar gewachsenen an. Auf dem gewöhnlichen Nähragar, auf der Gelatine und auf dem Blutserum sind plankonvexe, bikonvexe und kugelige Formen reichlich vorhanden[1]).

---

[1]) Das Vorkommen von plankonvexen, bikonvexen und kugeligen Formen in Kulturen der Choleravibrionen, in manchen frischen Reiswasserstühlen der Cholera sowie namentlich in den auf Leinwand im feuchten Raume aufbewahrten Choleraschleimflocken ist von mir mehrmals während der letzten 16—18 Jahre beschrieben und abgebildet worden. Diese Formen wurden wegen ihrer Beweglichkeit und Teilungsfähigkeit als aktive, nicht in Degeneration begriffene Involutionsformen angesprochen

Unser Muschelvibrio wächst gut in Peptonsalzwasser und gewöhnlicher Nährbouillon, bildet nach mehreren Tagen ein unvollkommenes Häutchen, das aus einer verfilzten Masse von wellenförmigen und spiraligen Fäden besteht. Nitroso-Indol wird weder in Peptonsalzwasser noch in Nährbouillon gebildet. Litmusmilch wird gerötet, doch bleibt die Milch 8 Tage hindurch flüssig. Später tritt Gerinnung ein. Erstarrtes Blutserum wird langsam zu einer syrupösen braunen Masse verflüssigt.

Subkutan ins Meerschweinchen injiziert, ruft unser Vibrio selbst in großen Dosen bloß lokalen Tumor hervor; intraperitoneal wirkt er giftig, denn eine Oese einer 24—48 Stunden alten Agarkultur ins Peritoneum eingespritzt, bewirkt den Tod des Tieres innerhalb 20 Stunden. Bei der Sektion zeigt sich das Peritoneum und der Darm stark injiziert und mit Ekchymosen besetzt. Die Peritonealhöhle enthält viscides trübes Exsudat, das mit den Vibrionen dicht erfüllt ist. Der Herkunft wegen erlaube ich mir, für unseren Mikroben den Namen Vibrio cardii vorzuschlagen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung von Aspergillus niger und A. glaucus auf die Larven von Culex und Anopheles.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **Bruno Galli-Valerio** und **Jeanne Rochaz-de Jongh.**

Mit 2 Figuren.

Im Laufe unserer Forschungen über die geeignetsten Mittel zur Vernichtung der Larven der Culiciden befaßten wir uns auch mit Versuchen mit pflanzlichen Parasiten. Indem wir aber mit B. megatherium, B. subtilis, B. proteus, B. pneumoniae, Actinomyces chromogenes, Penicillium glaucum nur teilweise oder negative Resultate erzielten, konnten wir mit Aspergillus niger und Aspergillus glaucus eine sonderbare Infektion hervorrufen, welche sich häufig durch eine charakteristische Verletzung kennzeichnete.

Die *Culex*- und *Anopheles*-Larven wurden in kleine Wasserbehälter gestellt; dem darin enthaltenen Wasser mischte man Sporen von A. niger oder A. glaucus bei, welche von Kulturen auf Rübe herrührten. Schon nach einigen Stunden sah man ein durch den Leib hindurch sich abzeichnendes grünes oder schwarzes Band, je nachdem die gebrauchten Sporen A. glaucus oder A. niger waren. Nach 24—48 Stunden war dieses Band äußerst augenscheinlich. Die Larven verloren ihr normales Aussehen, indem sie häufig an Lebenskraft einzubüßen schienen. Mit nicht infizierten Larven verglichen, sahen sie träge aus, mit langsamen

---

und deren Formänderung als durch Vakuolisierung bedingt erklärt. Microorganisms and Disease, 2. Aufl. 1886; The Bacteria in Asiatic cholera, (p. 56—59, Fig. 15—19). Kürzlich hat Almquist dieselben Formen in Kulturen der Choleravibrionen gesehen und als „neue Entwickelungsformen" beschrieben (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. No. 1. p. 18).

Bewegungen. Bei der Mehrzahl der Larven aber, die mit A. niger infiziert worden waren, ließ sich nach 24—48 Stunden eine eigentümliche Verletzung bemerken. An ihrem hinteren Ende war eine schwarze fadenartige Verlängerung zu sehen, welche mehr und mehr wuchs, bis sie oft die Körperlänge der Larve übertraf. Diese bot dann ein sonderbares Bild dar (Fig. 1 und 2). Die mit dieser Verlängerung behafteten Larven schleppten sich mit Mühe fort, blieben meistens auf dem Grunde des Behälters, schüttelten sich, um sich von diesem Anhängsel zu befreien, und in der Mehrzahl der Fälle verendeten sie. In einigen Fällen hingegen riß die Verlängerung ab und einige dieser Larven konnten sich noch weiter entwickeln und es bis zur Puppe und Bild bringen.

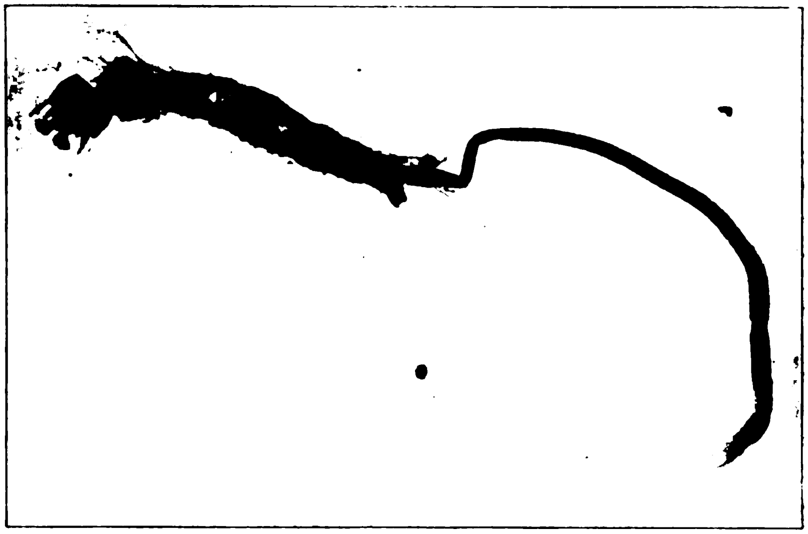


Fig. 1. Anopheleslarve mit A. niger infiziert.

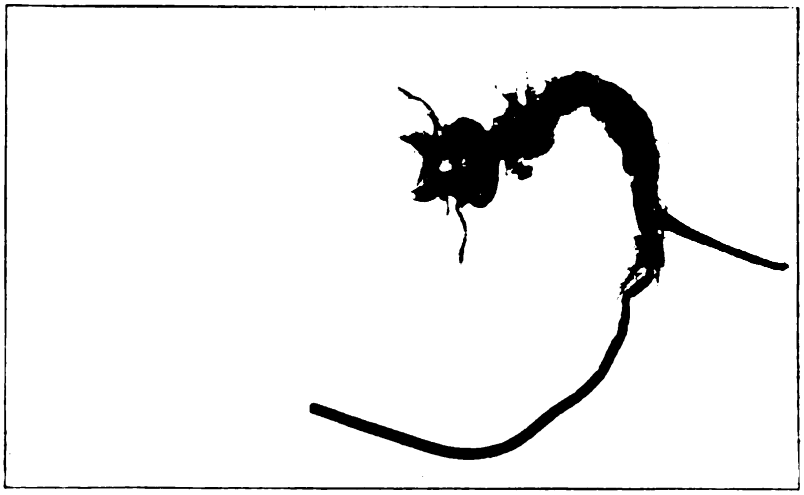


Fig. 2. Culexlarve mit A. niger infiziert.

Wurden diejenigen Larven mikroskopisch untersucht, welche die fadenartige Verlängerung nicht aufwiesen, so wurde konstatiert, daß das grünliche oder schwärzliche, schon mit dem bloßen Auge bemerkbare, schmale Band durch den Verdauungsapparat gebildet war, der förmlich mit Sporen, Sporenköpfen und auch Mycelium von Aspergillus vollgestopft war. Häufig schien der Darmtraktus durch eine Reihe je einer Anschwellung und einer Einschnürung gebildet und erhielt so ein rosenkranzartiges Aussehen.

Die mikroskopische Untersuchung der mit einer Verlängerung versehenen Larven ließ eine noch interessantere Tatsache feststellen: Diese fadenartige Verlängerung war nichts anderes als der Darm; dieser war aus der Bauchhöhle getreten und war gänzlich mit Sporen, Sporenköpfen und Mycelium gefüllt, welche man häufig aus der freien Extremität treten sah, besonders wenn man das Präparat leicht preßte, in der Art, daß diese Extremität oft leer erschien, wie es auf den Figuren zu sehen ist.

Welche Ursache ist dieser Erscheinung zuzuschreiben? Sie scheint uns eine einfache mechanische Wirkung zu sein: Die Larven verschlucken eine große Zahl Sporen, Sporenköpfe und Mycelium von Aspergillus, der Darm wird davon verstopft, die Larven bemühen sich, sie auszustoßen, und wahrscheinlich unter der Einwirkung dieser Anstrengungen fängt der Darm an, hervorzustehen, um dann fast in toto herausgetrieben zu werden. Die Tatsache, daß die Sporen und Sporenköpfe von A. niger größer sind als diejenigen von A. glaucus, und folglich leichter eine Verstopfung des Darmes zu stande bringen, kann erklären, warum obgenannte Verletzung nur bei den mit A. niger infizierten Larven vorkommt.

Es läßt sich fragen, wie trotz dieser schweren Verletzung einige Larven es zur kompletten Entwickelung bringen. Wir glauben, es handelt sich in diesem Falle um fast vollständig entwickelte Larven, welche im Begriff stehen, sich in Puppen umzubilden. Wir untersuchten diese, von infizierten Larven gebildeten Puppen und auch die aus diesen Puppen entwickelten Bilder, konnten aber keine Sporen von Aspergillus bei ihnen finden.

Wir stellten auch einen Versuch an, um die Infizierung mit A. niger in einem 30 Liter haltenden Wassertümpel zu erzeugen, in welchem zahlreiche *Culex*- und *Anopheles*-Larven vorhanden waren. Diesem Wasser mischten wir 2 zerstückelte Kulturen von A. niger auf Rübe bei und rührten es tüchtig, um die Sporen möglichst zu zerstreuen.

Schon 2 Tage darauf haben wir in diesem Tümpel infizierte Larven gefunden; 11 Tage später waren noch welche vorhanden und meistenteils waren es Larven von *Anopheles*. Aber von der großen Zahl Larven, welche in dieser Pfütze enthalten waren, hatte sich nur die Minderheit infiziert, und zwar hauptsächlich wenige *Culex*-Larven. Wir erneuten dieses Experiment in einem Fasse, das eine Anzahl von *Culex*- und *Anopheles*-Larven enthielt; wir konstatierten die Infizierung mehrerer Larven, aber ohne die Bildung der charakteristischen Verlängerung.

Zwei Ursachen können dem Fehlschlagen unserer zwei letzten Experimente zu Grunde liegen: 1) daß im Naturzustand die Larven reichliche Nahrung finden und folglich wenig geneigt sind, die Sporen von Aspergillus anzugreifen; 2) daß es vielleicht in den Pfützen viel größerer Menge Aspergillus-Sporen bedürfte, um günstige Resultate zu erzielen, als die Menge, die wir in diesem Falle brauchten. Diese Quantitätsfrage fände ihre Bestätigung in einem von uns gemachten Versuche, Larven dadurch zu infizieren, daß wir im gleichen Behälter, in welchem sie waren, lebende oder tote infizierte Larven hinzufügten.

In den früher nicht infizierten Larven wurden Sporen gefunden, aber nie eine gut charakterisierte Infizierung. Wir haben vor, diese Versuche nächstes Jahr fortzusetzen.

Wir wollten auch konstatieren, ob etwa die Sporen von A. niger eine schädigende Wirkung auf Fische hätten; zu diesem Zweck wurden mehrere *Cyprinus prasinus* in einen Behälter gestellt, dessen Wasser reichlich Sporen von Aspergillus niger beigegeben wurden; die Fische wiesen keine Krankheitserscheinungen auf.

Wir frugen uns auch, ob die Sporen von A. niger oder A. glaucus auf die erwachsenen Culiciden einwirken könnten. Zu diesem Experiment strichen wir eine reichliche Menge Sporen auf Kirschen; diese Kirschen wurden dann in Glaskästchen gehängt, welche zahlreiche erwachsene *Culex* und *Anopheles* enthielten. Aber trotzdem diese Culiciden die Kirschen mit Begierde aussaugten, konnten wir doch keine Infizierung feststellen.

Diesen Experimenten gemäß ist es also möglich, nicht nur in vitro, sondern auch in Pfützen, wenngleich mit weniger Sicherheit, durch die Sporen von A. niger eine fast immer tödliche Infizierung an Larven von *Culex* und hauptsächlich der *Anopheles*-Larven zu erzeugen. Diese Infizierung kennzeichnet sich durch eine Verstopfung des Verdauungsapparates mit Sporen, Sporenköpfen, Mycelium des Aspergillus und sehr häufig durch Extraflexio des Darmes. In seltenen Fällen können die Larven trotz dieser Verletzung sich in Puppen umbilden, welche nicht infizierte Bilder entwickeln.

Nachdruck verboten.

Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals.

Von Dr. **G. Bruini.**

Mit 15 Figuren.

Fräulein Dr. Tsiklinsky hat im März 1903 eine sehr interessante Arbeit über die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmes veröffentlicht, was bis dahin noch nie ex professo geschehen war.

Mc. Faydean und Blascall, L. Rabinowitsch, Gorini, Schillinger, Pretti, Sames, Russell und Hastings, Skotschko, Oprescu, Miquel, Ketzior und Laxa hatten allerdings schon früher die Beschreibung einiger aus verschiedenen Mitteln, d. h. aus dem Kot, dem Boden, dem Wasser, der Milch und der Luft isolierten thermophilen Bakterien gegeben, doch hatte keiner von ihnen bei Untersuchung des Kotes den obigen Standpunkt eingenommen.

Erst Fräulein Tsiklinsky hat diese Lücke ausgefüllt, ihr verdanken wir daher einen wichtigen Beitrag zur Kenntnis der Darmflora.

Sie hat zu ihrem Studium 20 Säuglinge in Moskau, 18 in Paris und 8 erwachsene Personen herangezogen und deren Darmentleerung genau geprüft und dabei, das Ergebnis der beiden Städte vergleichend, eine bedeutende Verschiedenheit festgestellt.

Dieses sonderbare Ergebnis hat mich dazu veranlaßt, ähnliche Versuche auch in Turin vorzunehmen, woselbst ich 10 Kotproben von Säuglingen und 10 von Erwachsenen einer näheren Betrachtung unterzog. Damit dann auch der Vergleich zwischen den Moskauer, Pariser und Turiner Versuchen erleichtert werde, habe ich dieselben Untersuchungsverfahren angewandt wie Fräulein Tsiklinsky.

Ich säte demnach die unter den größtmöglichen Vorsichtsmaßregeln entnommenen Kotstoffe in einige verschiedenartige Nährböden (einfachen Agar, glycerinierten Agar und Glukose, einfache Fleischbrühe und Laktose, Milch, Kartoffeln und geronnenes Ochsenblutserum) fassende Röhrchen ein.

Sobald in den Röhrchen eine Entwickelung sich bemerkbar machte, wurden die verschiedenen Arten in Petrische Schalen verbracht und so die Reinkulturen erhalten, die ich nachstehend beschreibe.

Ich bemerke an dieser Stelle, daß ich nur nach den im Beisein von Luft sich entwickelnden Mikroorganismen gesucht habe.

Thermophile aus dem Kote der Erwachsenen isolierte Mikroben.

Die zu dieser Untersuchung dienenden Kotproben wurden ein und derselben Person, aber zu verschiedenen Zeiten entnommen.

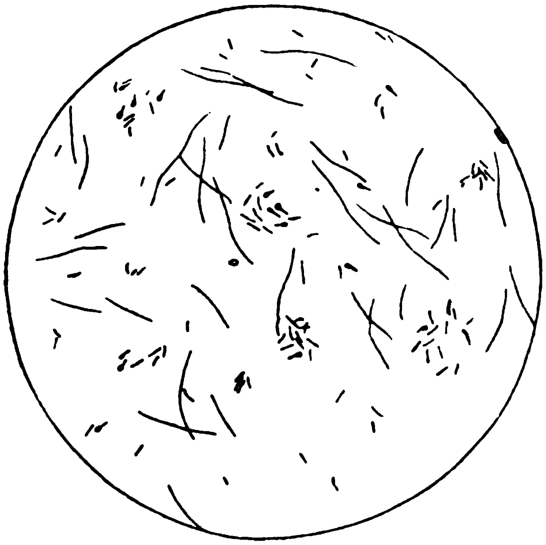


Fig. 1.

Bacillus No. 1 wurde nur 1mal isoliert. Er ist ein gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden, besteht nur selten aus 2 Elementen, dagegen gewöhnlich aus einem einzigen, unregelmäßig liegenden. Seine Länge ist verschieden und schwankt zwischen 4 und 5 μ, seine Breite 0,8 μ (Fig. 1)[1].

Nicht selten besitzt er ovale Endsporen von 1,7 μ × 1,3 μ. In den alten Kulturen bilden sich oft lange, nicht leicht kolorierbare Filamente, zuweilen mit hellen, fast oder ganz farblosen Räumen.

Er färbt sich mit allen Anilinfarben und reagiert auf Gram. Auf der Kartoffel bildet er eine dicke, zuweilen eine grauweiße, an einigen Stellen auch rosarote, nicht selten auch schuppige, trockene, nußfarbene Patina, die dann braun wird, sich verflüssigt und teilweise sich am Boden des Röhrchens ansetzt.

Auf dem Serum bildet er kleine, runde und weißliche Kolonieen. Die Milch bringt er nicht zum Gerinnen.

In Agar erzeugt er rundliche, schmutzig-weiße Kolonieen von 1—4 mm Durchmesser mit aufgequollenem Zentrum und durchsichtiger Umfassung. Die Kolonieen fließen leicht ineinander und bilden dabei mit Vorliebe an nicht durchsichtigen Stellen eine ausgedehnte, unregel-

---

[1] Die mikroskopischen Präparate entstammen im allgemeinen Bouillonkulturen. — Zeiss, Ok. 3, Obj. $^1/_{12}$ homog. Immersion.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

mäßige, weißliche Patina. Die Kultur gewährt so einen marmorähnlichen Anblick.

Die Bouillon wird gleichmäßig trübe und hat nach einigen Tagen einen weißlichen Bodensatz. Dieser Bacillus entwickelt sich in allen Medien. Bei 37° C entwickelt er sich nur mühsam unter Form eines feinen Taues (in Agar). Man beobachtet da viele involutive Stäbchenformen, die sich gegen sich selbst zurückbiegen und sich so zuweilen sogar mit den Enden berühren. Bei 37° C ein anderes Mal übertragen, entwickelt er sich nicht mehr. Bei 58° C nimmt er seine normalen Kennzeichen wieder an.

Dabei ist er unbeweglich. Auf Lackmus-Milchserum erzeugt er weder Säuren noch Alkalien. Aus den Kulturen entquillt kein Gas. Weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber ist er pathogen; überdies absoluter Aërobe.

Bacillus No. 2 wurde 2mal isoliert, und zwar aus dem Kote eines Erwachsenen und dem eines 6 Tage alten Kindes.

Er ist ein gerader Bacillus mit abgerundeten Enden, der zuweilen aus 2 Elementen zusammengesetzt ist. Länge 2—3 μ, Breite 0,3—0,4 μ (siehe Fig. 2). In allen Kulturen finden sich gesporte Bacillen, in einigen sind die Sporen sehr zahlreich. Diese Sporen sind oval, messen 1,3 μ × 0,6 bis 0,7 μ, liegen fast immer zentral, zuweilen auch in der Nähe eines Endes. Oft auch sind sie geradezu Endsporen. Fast niemals werden sie frei vorgefunden. Genannter Bacillus färbt sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben, reagiert auf **Gram** und entwickelt sich in allen Mitteln.

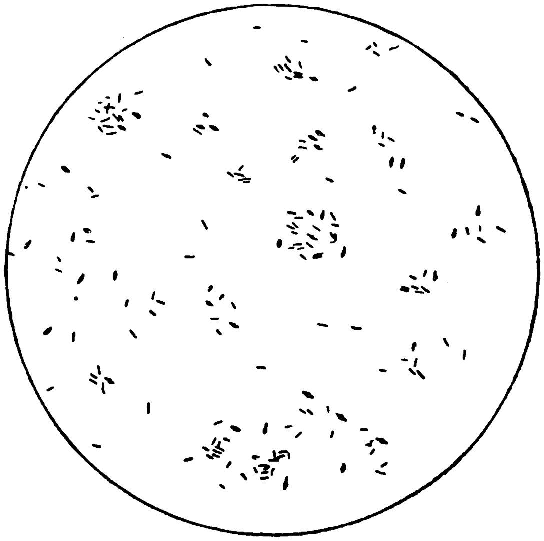


Fig. 2.

Auf der Kartoffel erzeugt er eine leichte blasse Färbung des Mediums. Auf Serum entwickelt er feinste und unter sich getrennte Kolonieen, die bis zu einem Durchmesser von 2 mm anwachsen. Die Milch bringt er nicht zum Gerinnen. In Agar erzeugt er kleine runde Kolonieen, die dann zusammenfließen, weißlich werden und das ganze Medium überziehen. In Bouillon bewirkt er eine starke Trübung nebst dünnem Häutchen an der Oberfläche, einem Ring längs der Wände des Röhrchens und Bodensatz. Bei 37° C langsame, spärliche Entwickelung in Glycerinagar und Bouillon. Spärliche Erzeugung von Alkalien: 0,03 g auf 100 g Kultur (in Soda ausgedrückt). Der Bacillus ist überdies immobil, absoluter Aërobe, entwickelt kein Gas und ist weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber pathogen.

Bacillus No. 3 wurde nur 1mal isoliert. Er besteht aus einem unbeweglichen, geraden Stäbchen mit abgerundeten Enden, mißt 2—3 μ × 0,6—0,7 μ, ähnelt dem Bacillus No. 1, ist jedoch etwas kürzer und dünner. Zuweilen besitzt er ovale, Clostridium-förmige Sporen von 1,4 μ × 0,7 μ. In alten Kulturen beobachtet man lange Filamente, die so aussehen, wie wenn sie aus mehreren einzelnen, durch helle Räume — von der Größe des Bacillus selbst — voneinander getrennten Bacillen zusammengesetzt wären. Die Färbung gelingt mit allen Anilinfarben, nicht aber mit Gram.

Die Entwickelung ist, das Serum ausgenommen, auf allen Mitteln möglich: Auf der in der Mitte ausgehöhlten und weniger konsistenten Kartoffel bilden sich in der Form einer feuchten und nach einigen Tagen flüssigen Patina weißliche Kolonieen. Die Milch gerinnt.

In Agar entwickeln sich weißliche, fast farblose Kolonieen, die zusammenfließen und der Oberfläche des Mediums einen besonderen Glanz geben und sie feucht aussehen lassen; außerdem Niederschlag und Trübung des Kondensationswassers. In Bouillon tritt eine allgemeine Trübung auf, ein leichter Schleier an der Oberfläche und Niederschlag. Bei 37° C keine Entwickelung. Absoluter Aërobe. Der Bacillus erzeugt kein Gas, aber 0,02 g Säure auf 100 g (in Schwefelsäure ausgedrückt).

Dieser Keim ist weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber pathogen.

Bacillus No. 4 ist nur ein einziges Mal vorgefunden worden. Er ist gerade oder leicht gekrümmt, isoliert und mißt 2—3 μ × 0,6 μ.

Im Innern des Bakteriums erblickt man entweder freie, 2 μ × 1 μ und selbst 2 μ × 1,3 μ, oder längliche, 2 μ × 0,6 μ messende Sporen. Oft werden auch Filamente beobachtet, dagegen keine Färbungsbesonderheit. Reagiert auf Gram.

Das Serum ausgenommen, entwickelt sich dieser Bacillus in allen Mitteln. Auf der Kartoffel erzeugt er eine dichte, ausgedehnte, nicht unterbrochene, nußfarbene Patina, die nach einigen Tagen flüssig wird. Koaguliert die Milch und entwickelt sich stark im Serum.

In einfachem Agar wächst er schlecht, in Glycerin- oder Glukoseagar produziert er weißliche Patina, sowie einen leichten, reichlichen Schleier auf dem nicht trüben Kondensationswasser. Auf Bouillon bildet sich allgemeine Trübung, kein Schleier und etwas Bodensatz.

Bei 37° C kein Wachstum; unbeweglich. Alkalierzeugung: 0,08 g auf 100 g. Absoluter Aërobe; keine Gasentwickelung. Weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber pathogen.

Bacillus No. 5 wurde 2mal vorgefunden. Er ist gerade, dick und kurz, zuweilen besteht er aus 2 Elementen, öfters ist er auch in der Mitte wie zusammengeschnürt und hat dann die Form eines kurzen Biskuits, nicht selten sieht er auch wie ein Coccus aus (siehe Fig. 3). Der Bacillus ist 1,3 bis 2,6 μ lang und 0,5—1 μ breit. In der Milch ist er dünner (0,4 μ), zuweilen beobachtet man auch eine Spore, aber niemals Einschnürungen. Er entwickelt sich in allen Mitteln und besitzt keine Färbungsbesonderheit. Auf Gram reagiert er.

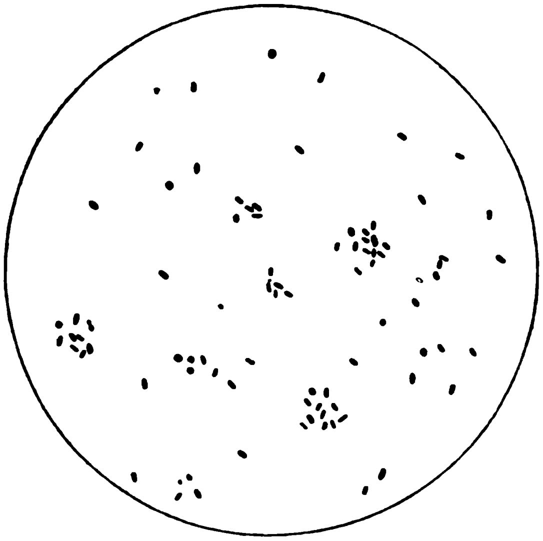


Fig. 3.

Auf der Kartoffel beobachtet man eine Vertiefung mit weißlicher, deutlich sichtbarer Patina. Auf dem Serum entwickeln sich kleine, weißliche Kolonieen von 2 mm Durchmesser. Die Milch gerinnt. Auf Agar ausgedehnte, leicht weißliche, durchsichtige Patina, die sich mit besonderer Vorliebe da entwickelt, wo das Kondensationswasser mit dem Mittel in Berührung kommt. In der Bouillon trüber, leichter Schleier an der Oberfläche und Bodensatz.

Kein Wachstum bei 37° C. Weder Alkali- noch Säureerzeugung; unbeweglich. Keine Gasproduktion. Absoluter Aërobe. Weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber pathogen.

Bacillus No. 6 wurde ein einziges Mal isoliert, besteht oft aus 2—3 Elementen mit abgerundeten Enden. In der Mitte ist er eingeschnürt und sieht wie eine Vereinigung von 2 Kokken aus. Ueberdies ist er eingekapselt (siehe Fig. 4), mißt ungefähr 2,5--3,5 μ × 0,4—0,5 μ, besitzt freie, ovale, 1,3 μ × 0,8 μ messende Sporen, färbt sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und reagiert auf Gram.

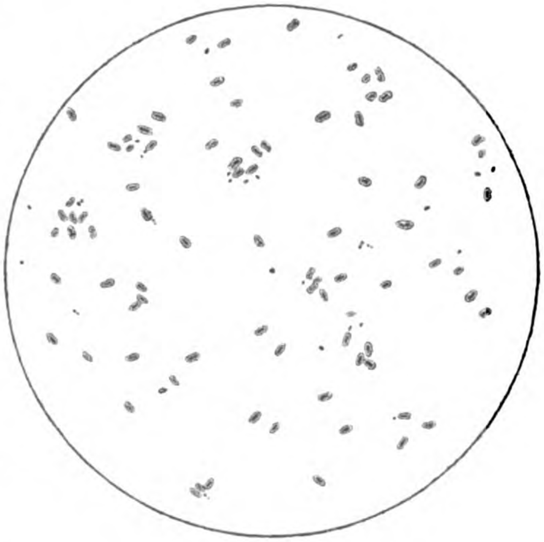


Fig. 4.

Er entwickelt sich in allen Mitteln. Auf der Kartoffel bildet sich eine farblose, flüssige Patina, auf dem Serum eine leichte Trübung, die Milch bringt er zum Gerinnen. In Agar erzeugt er eine diffuse weißliche Patina, in der Bouillon eine Trübung und leichten Niederschlag. Wachstum im Kondenswasser.

Bei 37° C entwickelt er sich kräftig und gibt in Agar eine dichte, faltige, auf die ganze Oberfläche des Mittels ausgedehnte Patina. Der Bacillus ist unbeweglich, erzeugt kein Gas, ist ein absoluter Aërobe, erzeugt ein wenig Alkali (0,04 g auf 100 g) und ist weder für das Meerschweinchen noch für die Maus pathogen.

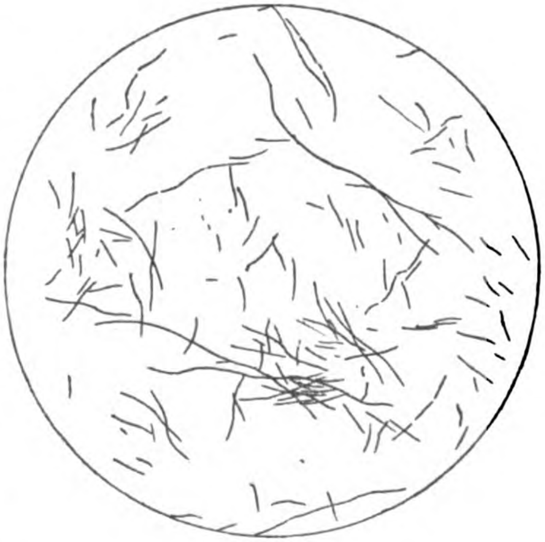


Fig. 5.

Bacillus No. 7 wurde 2mal isoliert. Er ist ziemlich groß, gerade, oft auch gewunden oder gekrümmt; oft finden sich verschiedene Elemente reihenweise beisammen oder in der Form von ununterbrochenen Fäden. Seine Enden sind abgerundet. Er mißt 4—7 μ in der Länge und 0,7—1 μ in der Breite (siehe Fig. 5).

Man beobachtet freie, ovale, 1 μ × 1,5 μ messende und farblose

Sporen. Die Färbung gelingt mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen, überdies reagiert er auch auf Gram.

Im Serum wächst er nicht. Auf der Kartoffel erzeugt er runde, weißliche Kolonieen von 2 mm Durchmesser; zuweilen auch eine weißliche, an einigen Stellen leicht rosarote Patina. Die Milch gerinnt. In Agar bewirkt er eine gelblich-weiße, gleichförmige Patina. Besonders stark ist die Entwickelung dort, wo das Kondensationswasser mit dem Mittel in Berührung ist.

Die Bouillon ist gleichmäßig trübe. Bei 37° C keine Entwickelung. Der Bacillus ist unbeweglich und absoluter Aërobe. Er entwickelt kein Gas, erzeugt 0,08 g Alkali auf 100 g und ist weder für das Meerschweinchen noch für die Maus pathogen.

No. 8, Streptothrix, wurde nur 1mal vorgefunden. Ihre Fäden haben eine Länge von ungefähr 0,5 μ und sind gewunden, besonders die langen. Die kürzeren Fäden weisen oft plötzliche Krümmungen nach rückwärts auf; viele der Fäden sind wirklich verästelt. Die Zweige laufen in fast rechtem Winkel und unregelmäßig von dem Stamm aus, wonach auch die weitere Verzweigung keine regelmäßigen Entfernungen einhält. Längs der Fäden bemerkt man zuweilen von einem leicht gefärbten Rande umgebene, helle Räume, die an Größe denjenigen der Sporen gleichen.

Die Dicke der Fäden ist nur wenig verschieden. Es werden auch freie, runde, mit den gewöhnlichen Färbemitteln leicht färbbare Sporen beobachtet. Die Streptothrix ist mit allen Anilinfarben färbbar und reagiert auf Gram.

Auf der Kartoffel erzeugt sie eine sehr feine, gelblich-weiße, körnige, zuweilen auch orangefarbene Punktierung, öfters sieht man auch in alten Kulturen einige weiße Körnchen. Die zuerst vereinzelt auftretenden Kolonieen sehen wie ein unregelmäßiger Haufen kleiner, im Durchmesser $^1/_2$ mm betragender, bröckeliger und leicht lösbarer Körnchen aus; sind die Kolonieen aber jung, so haften sie dem Mittel an und sind daher vereinzelt und in Berührung mit dem Mittel (siehe die eine Kartoffel- und eine Agarkultur darstellenden Figuren).

Besonders im einfachen Agar entwickelt sich diese Streptothrix nur mühsam und bildet weißliche, körnige, nicht zusammenfließende, sondern sich überschichtende Kolonieen von ca. 1 mm Durchmesser. In der Bouillon entwickelt sie sehr kleine, flockenartige, ziemlich schlecht entwickelte Kolonieen, die sich am Boden festsetzen und keine gleichartige weiße Masse bilden; das Medium bleibt klar.

Bei 37° C entwickelt sie sich ziemlich stark und mit denselben Kennzeichen, erzeugt kein Gas, wohl aber ein wenig Säure (0,04 g auf 100 g), ist unbeweglich und weder für Meerschweinchen noch für Mäuse pathogen.

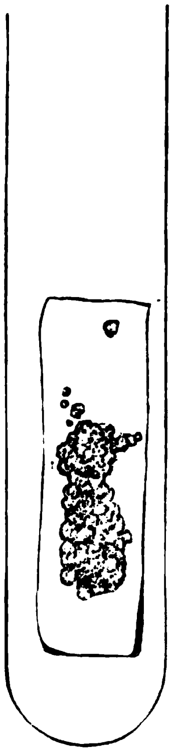


Fig. 6.

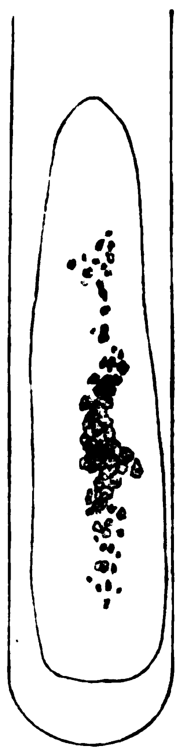


Fig. 7.

No. 9, Streptothrix, wurde 3mal aufgefunden. Die Kolonieen bestehen aus langen, verzweigten, 0,4—0,6 μ messenden Fäden. Die Form dieser Fäden unterscheidet sich nicht von der bei Streptothrix No. 8 beobachteten. Ihre Sporen sind rund, farblos und haben einen Durchmesser von 0,8—1 μ. Die Färbung gelingt mit allen Anilinfarben, ebenso mit Gram, wobei jedoch einige Fäden die Farbe verlieren.

Auf der Kartoffel nimmt sie eine weißliche, blasse Farbe an, alte Kulturen bilden eine kastanienfarbene, dicke Patina mit unregelmäßigen, mit weißem, feinem Staube bedeckten Zonen. Die Milch gerinnt. Im Serum finden sich Filamente. Auf Agar erhält man sehr eigentümliche Kolonieen. Die Entwickelung findet in konzentrischen Zonen statt und nach einigen Tagen bemerkt man einige Höfe, die abwechselnd durchsichtig und weißlich sind. Außerdem gehen vom Zentrum das Medium durchziehende Furchen aus, die sich leicht verzweigen und dem ganzen ein strahlenförmiges Aussehen verleihen, was infolge der verschiedenartigen Durchsichtigkeit der einzelnen Zonen stark ins Auge fällt (siehe Fig. 8).

Diese Kolonieen können einen Durchmesser von 3—4 cm erreichen. Dieser Anblick bot sich bei den ersten Uebertragungen, später verloren die Kolonieen teilweise ihr charakteristisches Aussehen und es fand sich nur noch eine farblose Patina (siehe Fig. 9) mit rundlicher Einfassung und einem 1—2 mm dickeren Zentrum vor, deren Rand mit einem weißen Staube bedeckt und sehr unregelmäßig war. Die Kolonieen haben einen Durchmesser von 1—1½ cm.

In der Bouillon entstehen vereinzelte flockenförmige Kolonieen am Boden, im Mittel selbst suspendiert, den Wänden des Röhrchens entlang oder an der Oberfläche. Ebenda nehmen sie die Form von oben flachen und unten leicht flockenförmigen Scheiben an; beim Veralten der Kolonieen nähern sich die Scheiben bis zum Berühren, ohne ihr weiteres Wachstum einzustellen. So kommt es, daß ihre Ränder sich am Berührungspunkte in die Höhe richten und sich die Wände von so und so vielen Zellen bilden, deren Grund durch die ursprüngliche Scheibe gebildet wird. In diesem Falle sieht die Oberfläche der Flüssigkeit gerade wie eine Membran aus, in die kleine, wie Alveolarzellchen aussehende, teils mit weißem Staub bedeckte, teils farblose Zellen (siehe Fig. 10) eingesenkt sind; die Mitte bleibt klar, die veralteten Grundkolonieen bieten sehr oft ein Aussehen wie Detritus oder Kristallnadeln.

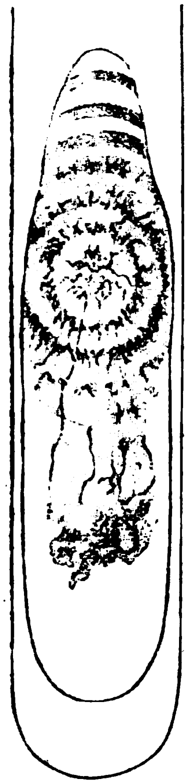


Fig. 8.

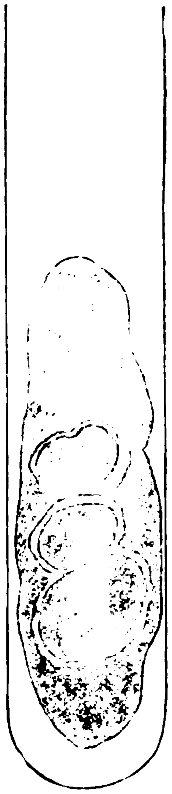


Fig. 9.

Bei 37° C keine Entwickelung. Sie produziert kein Gas und ist unbeweglich. Die Alkalierzeugung ist = 0,12 g auf 100 g. Absoluter Aërobe und weder dem Meerschweinchen noch der Maus gegenüber pathogen.

Alles zusammenfassend, komme ich zu nachstehendem Ergebnis:

1) Es wurden 9 Arten thermophiler Mikroorganismen isoliert, 7 Bacillen und 2 Streptothricheen.

2) 4 Bacillen und 1 Streptothrix sind absolut thermophil.

3) Alle sind absolute Aërobien.

4) Alle reagieren auf Gram und sind Sporenerzeuger.

5) Alle wachsen auf Kartoffeln gut.

6) Keiner ist pathogen.

7) Alle Kotproben führten zur Entwickelung von Mikroorganismen.

Beschreibung der aus dem Kote Neugeborener isolierten thermophilen Bakterien.

Die Kotproben wurden von gesunden, 3—8 Tage alten Kindern geliefert und stammen aus der Entbindungsanstalt, dessen Direktor, Herrn Prof. Vicarelli, ich an dieser Stelle meinen besten Dank für die freundliche Abgabe des Materials abstatte.

Bacillus No. 10 wurde 2mal isoliert, 1mal aus 6-tägigem Kot, das andere Mal aus 5-tägigem. Er ist gerade, an den Enden abgerundet, zuweilen auch gekrümmt und findet sich oft in Form von 5—6 Elemente enthaltenden Schnüren vor. Seine Größe beträgt 2—3 $\mu \times 0{,}6\ \mu$. Nicht selten erscheint er unter Form von Filamenten. Selten beobachtet man zentrale, ovale, 1,3 $\mu \times 0{,}8\ \mu$ messende Sporen, denn meistens sind sie frei.

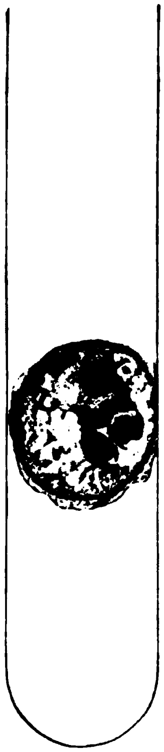


Fig. 10.

Die Färbung gelingt mit den gewöhnlichen Anilinfarben. Auf Gram erfolgt Reaktion. Oefters bieten sich die Bacillen in der Mitte farblos und an den Enden mit gut gefärbten runden Körnchen dar. Zuweilen erblickt man nur ein Ende gefärbt und nicht selten auch ein Körnchen im Zentrum des Bacillen (siehe Fig. 11). Nur sehr selten sind diese Körperchen frei und bieten das Bild der Kokken.

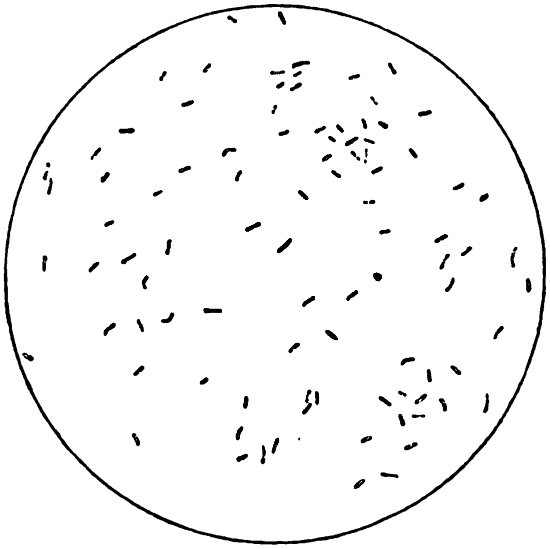


Fig. 11.

Er entwickelt sich auf allen Nährböden, nicht aber auf dem Serum. Auf der Kartoffel erzeugt er ein mit einer aschbraunen, feuchten Patina bedecktes Grübchen, in der Milch Koagulation, im Serum zahlreiche Bacillen und viele lange Fäden. Im Agar entsteht eine ausgedehnte, weißliche, fast farblose Patina, im Kondensationswasser beobachtet man Entwickelung und weißlichen Bodensatz, in der Bouillon Trübung des Mittels, einen glänzenden Schleier an der Oberfläche, einen dem Röhrchen anhaftenden Rand und einen weißen Bodensatz.

Bei 37° C entwickelt er sich und bewegt sich. Besonders die Fäden haben rasche, schlangenähnliche Bewegungen. Die Alkalierzeugung ist 0,04 g auf 100 g. Keine Gasentwickelung. Absoluter Aërobe; weder für Meerschweinchen noch Mäuse pathogen.

Bacillus No. 11 ist aus 6 Tage altem Kote isoliert worden. Bezüglich der Beschreibung sehe man den Bacillus No. 2 nach, dem er vollständig gleicht.

No. 12, Streptothrix, ist 1mal aus 4 Tage altem Kot isoliert worden, und zwar in der Form von geraden, zuweilen aus 2 Elementen bestehenden Bacillen, oft auch in der Form von langen Fäden. Diese Bacillen sind 2,6—3,8 μ lang und 0,5 μ breit. Oefters finden sich auch ovale, 1,3 μ × 0,8 μ messende Sporen vor (siehe Fig. 12).

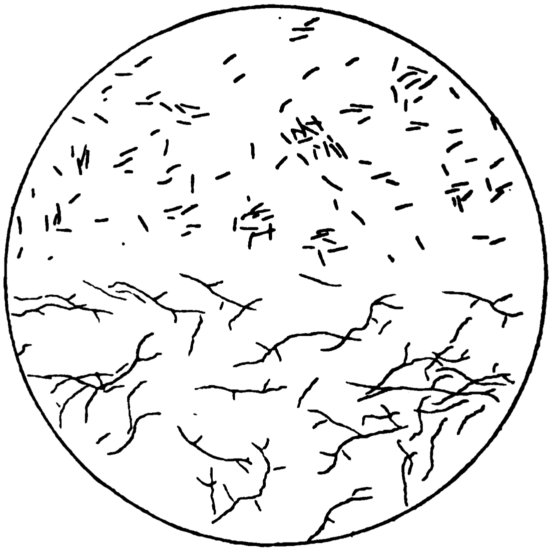


Fig. 12.

Bei 20 Uebertragungen beobachtete ich nur 3mal, und zwar 1mal auf der Kartoffel, 1mal im Agar und 1mal in der Bouillon, die Entwickelung einer Streptothrix mit wirklich verästelten, 0,2—0,6 μ dicken, gewundenen Fäden mit jungen, immer dünner werdenden Verzweigungen des ursprünglichen Fadens und mit runden Sporen von 1,3 μ Durchmesser. Die Färbung gelingt mit allen Anilinfarben, auch mit Gram. Sie entwickelt sich auf allen Nährböden.

Auf der Kartoffel erzeugt sie eine gelbliche, stellenweise gelblich-rote, feuchte Patina, auf dem Serum sehr kleine, farblose Kolonieen von 1 mm Durchmesser, die wie Tau aussehen. Die Milch gerinnt. Im Agar entstehen aschweiße, runde Kolonieen mit dünnerem, an der Peripherie durchsichtigem Zentrum. Die Kolonieen haben einen Durchmesser von 1—2 mm und fließen dann zusammen. Zuweilen sind sie im Zentrum dicker und bieten ebenda das Aussehen eines braunen Punktes dar; im trüben Kondensationswasser ein Bodensatz. In der Bouillon zeigt sich eine verbreitete Trübung; nach einigen Tagen ein leichter Schleier an der Oberfläche und ein staubartiger Niederschlag am Boden und an den Wänden des Röhrchens.

Die Entwickelung unter Form einer Streptothrix bot dieselben Kulturkennzeichen. Nur die Bouillon war nicht trübe und in ihr schwammen kleine, weiße Flocken. Bei 37° C kein Wachstum. Die Streptothrix ist unbeweglich, absoluter Aërobe. Ihre Säureproduktion 0,08 g auf 100 g. Keine Gasentwickelung. Sie ist weder für Meerschweinchen noch für Mäuse pathogen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität in Siena. (Direktor: Prof. A. Sclavo.)]

Von Dr. **Nello Mori**, Tierarzt.

(Schluß.)

Wirkung auf Neutralrot.

Es ist bekannt, daß einige Mikrobenarten das Neutralrot zu entfärben vermögen, andere hingegen keine Wirkung auf dasselbe ausüben.

Diese Eigenschaft hat man als differentialdiagnostisches Hilfsmittel zur Unterscheidung des Bact. coli vom Typhusbacillus verwertet, das in der Praxis in der Tat gute Dienste leistet.

A. Wolff[1]) empfiehlt, wie folgt, zu verfahren: Einer Kultur auf einfachem oder mit Zucker versetztem Agar mischt man 1 oder 2 Tropfen einer 1—2-proz. Neutralrotlösung bei und gießt dann etwas Gelatine oder Agar auf die Kultur, um sie gegen den Sauerstoff der Luft zu schützen. Hat der Keim, den man studiert, Wirkung auf diese Substanz, so nimmt die Kultur in höchstens 24—48 Stunden eine charakteristische, gelb fluoreszierende Farbe an.

Ich habe dieses diagnostische Mittel häufig angewendet und kann nur sagen, daß es seinem Zwecke vollständig entspricht. Doch kommt nach dem von Wolff angegebenen Verfahren die Entfärbung mitunter weniger rasch und vollständig zu stande, denn da es sich um Bakterien handelt, die, wie das Bact. coli (besonders in mit Zucker versetztem Nährmittel), Gas erzeugen, bekommt der Agar leicht einen Riß oder löst sich von der Wand der Röhre ab, infolgedessen das Gas aus der Kultur entweicht und die Luft in Berührung mit dem Neutralrot kommt, was dessen Entfärbung zum Teil verhindert.

Eine rasche und vollständige Entfärbung erhielt ich durch folgendes Verfahren: Dem in der Röhre geschmolzenen Agar mischte ich 1—2 Tropfen einer sterilisierten 2-proz. Neutralrotlösung bei, ließ ihn erkalten und infizierte ihn mittels Einstiches. Hierauf goß ich 2—3 ccm sterilen Paraffinöls in die Röhre, um das Neutralrot gegen den Kontakt mit der Luft zu schützen. Sobald sich Gas entwickelt, bekommt der Agar allerdings einen Riß, aber dieser wird durch das Paraffinöl bedeckt und das Gas entweicht in Blasen durch letzteres.

Noch bessere Resultate erhielt ich, wenn ich Löfflersche Bouillon mit Neutralrot färbte, sie dann infizierte und Paraffinöl aufgoß.

Durch diese Modifikationen konnte ich das Bact. coli vom Eberthschen Bacillus schon wenige Stunden nach Impfung der Röhren differenzieren.

Was den in Rede stehenden Keim anbelangt, so entfärbt er das Neutralrot innerhalb 24 Stunden vollständig.

---

1) Wolff, A. Die Differentialdiagnose des Typhusbacillus von Bacterium coli, auf Grund der Säurebildung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 8. p. 645—647.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Wirkung auf oxygeniertes Wasser.

Prof. Sclavo teilte in diesem Jahre der Accademia dei Fisiocritici in Siena die Resultate von Experimenten mit, die Dr. Giusti[1]) über die Zersetzung oxygenierten Wassers durch die Wirkung verschiedener Nahrungsstoffe, verschiedener tierischer und pflanzlicher Gewebe, verschiedener Exkrete und Sekrete des tierischen Organismus und durch Mikroorganismen ausgeführt hat, welche Experimente derselbe noch fortsetzt.

Giusti hat beobachtet, daß wenn man zu ungefähr 5 ccm Bouillonkultur der meisten Mikroorganismen 1—2 Tropfen 30-proz. Merckschen oxygenierten Wassers zusetzt, dieselbe mehr oder weniger schnell eine Zersetzung erfährt, die durch spärliche oder reichliche Gasentwickelung und Ansammlung der Gase in Form von Schaum an der Oberfläche der Flüssigkeit charakterisiert ist.

Diese Reaktion kann, wie leicht begreiflich, ein sehr wertvolles Mittel zur bakteriologischen Diagnose bilden, angesichts der Tatsache, daß manche Keime, wie der Rotzbacillus, der Streptococcus und die Choleravibrionen, oxygeniertes Wasser gar nicht oder in kaum merklicher Weise zersetzen.

Derartige Versuche nahm ich auch an dem von mir isolierten Keime vor; ich erhielt folgende Resultate:

Mischt man einer alten oder frischen Bouillonkultur 1—2 Tropfen oxygenierten Wassers bei, so bildet sich gleich oder nach kurzer Zeit Sauerstoff, der sich, zuweilen in großer Menge, in Bläschen an der Oberfläche der Flüssigkeit ansammelt.

Filtrate von 7-tägigen Bouillonkulturen zersetzen oxygeniertes Wasser immer, wenn auch mit einiger Verzögerung.

Dieses Vermögen erhält sich in 30 Minuten lang bei 70° gehaltenen Filtraten unverändert; in 30 Minuten lang bei 120° gehaltenen Filtraten erfolgt die Sauerstoffentwickelung langsamer, nach fast 1 Stunde.

Aufsuchen des Proteïnochroms oder Tryptophans.

Vor kurzem haben Erdmann und Winternitz[2]) zur Differentialdiagnose einiger Bakterien eine neue Reaktion empfohlen, nämlich die Proteïnochrom- oder Tryptophanreaktion.

Zum Aufsuchen dieses Körpers, der in Kulturen gewisser Mikroorganismen in mit 5 Proz. Pepton versetzter Bouillon mehr oder weniger schnell anzutreffen sei, säuert man nach den Verff. dieselben mit Essigsäure leicht an und fügt unter Schütteln der Röhre frisch bereitetes, mit Chlor gesättigtes Wasser tropfenweise hinzu. Sind wahrnehmbare Mengen von Proteïnochrom vorhanden, so genügen schon wenige Tropfen Chlorwasser zur Hervorrufung einer deutlichen Rotfärbung.

Nach diesem Verfahren forschte ich in jungen und alten Kulturen des Typhusbacillus, des Bact. coli und meines Keimes wiederholt nach dem Proteïnochrom, erhielt aber, sowohl bei Zusatz kleiner als bei Zusatz bedeutender Chlorwassermengen, inkonstante Resultate; so fand die Reaktion mitunter in Bact. coli-Kulturen statt, während sie in Typhusbacillenkulturen manchmal ausblieb.

---

[1]) Giusti, G., Sulla scomposizione dell' acqua ossigenata. (Atti della R. Accademia dei Fisiocritici in Siena. Ser. IV. Vol. XV.)

[2]) Erdmann u. Winternitz, Ueber das Proteïnochrom, eine klinisch und bakteriologisch bisher nicht verwertete Farbenreaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 982.)

Nach meinen Erfahrungen tut man zur Erzielung der Rotfärbung besser, eine bedeutende Menge Chlorwasser auf einmal hinzuzufügen.

Eine deutlichere und konstantere Reaktion erhielt ich, wenn ich das Chlorwasser in einer Menge von ungefähr 2 ccm an der Wand der Röhre hinabfließen ließ, ohne diese irgendwie zu schütteln. Das Chlorwasser bleibt dann an der Oberfläche der Kulturflüssigkeit und auf der Trennungsfläche nimmt man bei Vorhandensein von Tryptophan einen feinen, aber ganz deutlichen violettroten Hof wahr.

Bei diesem Verfahren gibt mein Keim schon nach 24 Stunden die Proteïnochromreaktion; in mehrere Tage alten Kulturen tritt dieselbe rasch und ganz deutlich auf.

Bei diesem Verfahren geben auch Typhusbacillenkulturen sehr häufig die Farbenreaktion, die ich dagegen bei Kulturen verschiedener Bact. coli-Exemplare nie wahrnahm.

Einimpfung in Tiere.

Der von mir isolierte Bacillus erwies sich als virulent für alle Tiere, denen ich ihn einzuimpfen Gelegenheit hatte: Meerschweinchen, Kaninchen, Taube, weiße Maus, Katze, Igel.

Meerschweinchen. 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, subkutan eingeimpft, tötet Meerschweinchen in 18--20 Stunden, $^1/_2$ ccm in 28—48 Stunden.

Kurze Zeit nach der Impfung gewahrt man an der Impfstelle bedeutendes ausgedehntes Oedem, das von einem konsistenteren Ring umgeben ist; das Tier frißt nicht mehr und kauert sich zusammen.

Später hat es zerzaustes Haar, macht schwankende Bewegungen, und aus dem Konjunktivalsack fließt serös-schleimiger oder eiteriger Katarrh.

(Pathologisch-anatomischer Befund.) Haut an der Oedemstelle leicht zerreißbar, sero-gelatinöses Exsudat mit Hämorrhagieflecken auf dem ganzen Körper und besonders an den Leisten- und Axillardrüsen; Muskeln blaß und zerreibbar.

Der Darm weist hier und dort subseröse Ekchymosen auf; der Dünndarm enthält fast nie Kot, dagegen Gas oder fast farblose Flüssigkeit.

Der Dickdarm ist gewöhnlich, besonders auf der Strecke des großen Grimmdarms, mit verdichteten Kotstoffen und zum Teil mit Schleim gefüllt; manchmal enthält er aber gar keinen Kot, sondern nur schaumigen Schleim. Die Darmschleimhaut, die blaß ist, weist keine scheinbaren Läsionen auf.

Leber und Milz vergrößert, dunkelfarbig, mitunter mit hämorrhagischen Punkten besät.

Die Niere weist makroskopisch nie Läsionen auf; die Nebennieren dagegen erscheinen bald fast normal, bald ein wenig oder stark gerötet.

In der Harnblase ist mitunter dicker, weißer Schleim vorhanden.

Die Lunge ist leicht gerötet; bei Einschnitt tritt flüssiges Blut aus.

Das Herz ist diastolisch und enthält ebenfalls geronnenes dunkles Blut.

Sowohl bei Meerschweinchen als bei den anderen Tieren wurden im Blute nur wenige Bacillen angetroffen, in größerer Zahl in der Milz, der Leber und den übrigen Organen (Lunge, Euter, Hoden), sowie in den Sekretions- und Exkretions- (Galle, Harn) und Exsudationsprodukten (Oedem).

Kaninchen. 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur tötet Kaninchen in ungefähr 3 Tagen.

Das Tier verliert bald alle Freßlust, weist Oedem, Konjunktivalkatarrh, schaumige Diarrhöe und zuletzt bedeutende Hypothermie auf.

Bei der Nekroskopie trifft man die gleichen anatomischen Läsionen wie bei Meerschweinchen an.

Im Mast- und Grimmdarm schaumiger, gelblicher Katarrh.

Tauben. Eine Taube, die mit $^1/_3$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur subkutan am Schenkel geimpft wurde, starb nach 6 Tagen.

Bei der Nekroskopie wurden beinahe die gleichen Läsionen wie bei den vorgenannten Tieren angetroffen.

Weiße Mäuse. Ein Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur tötet weiße Mäuse in ungefähr 48 Stunden. Der gleiche pathologisch-anatomische Befund.

Katzen. $^1/_3$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, subkutan injiziert, tötet Katzen in 10—15 Tagen.

Die Krankheit beginnt innerhalb 24 Stunden mit einer Temperaturerhöhung von 2°, die bis zum 7. Tage anhält; dann nimmt die Temperatur ab und wird am 10. Tage wieder normal, hernach sinkt sie immer mehr bis zum Tode. In der Agonie konstatiert man Hypothermie von 1°.

Während des ersten Stadiums zeigt das Tier ziemlich große Freßlust, ist aber stark styptisch. Das Thermometer ist beim Zurückziehen aus dem Rectum mit dickem, übelriechendem Schleim beschmutzt. Das Tier weist bedeutendes, ausgedehntes, schmerzhaftes, warmes Oedem auf, das aber nicht wie bei den erstgenannten Tieren von einem härteren Ring umgeben ist; doch ist die Haut am abschüssigen Teile des Oedems verdickt. Diese Symptome, denen sich noch Depression und Anorexie hinzugesellen, nehmen während des zweiten Stadiums bis zum Tode zu.

Bei der Nekroskopie konstatiert man ausgedehntes Oedem, mit reichlichem serös-hämorrhagischem Exsudat; an der Oedemstelle sehr verdickte harte Haut, die in ihrer Dicke serös-hämorrhagisches Exsudat einschließende, miteinander kommunizierende Hohlräume enthält. Die Muskeln sind blaß und zerreibbar.

In der Bauchhöhle: Milz stark hypertrophisch, bis an die Vorschamgegend sich erstreckend; Leber vergrößert, mit punktförmigen Hämorrhagieen, Nieren und Nebennieren fast normal.

Der Dickdarm enthält, besonders auf der Strecke des großen Grimmdarmes, schokoladenfarbige, bis fast zum Rectum reichende Kotballen; die Schleimhaut ist blaß. Das Rectum enthält Schleim.

Brusthöhle: Lungen leicht gerötet. Herz diastolisch, bei der Eröffnung tritt blasses, flüssiges Blut aus.

Eine Katze, welcher 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in den Verdauungskanal eingeführt worden war, wies vom 2.—6. Tage Temperaturerhöhung von ungefähr 1° und reichliche, in Entleerung schwärzlicher Massen bestehende Diarrhöe auf; sie hatte dabei fast übermäßige Freßlust. In der Folge trat Verstopfung auf, die Temperatur sank allmählich bis zum Tode, der nach 17 Tagen erfolgte.

Bei der Nekroskopie wurde nichts Bemerkenswertes angetroffen, außer im Darm, der ähnliche Veränderungen aufwies wie der Darm der subkutan geimpften Katzen; im Blute und in den inneren Organen wurden die spezifischen Bacillen nicht angetroffen.

Igel. 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, subkutan eingeimpft, tötete einen jungen Igel von 420 g Gewicht in ungefähr 36 Stunden.

Bei der Nekroskopie konstatierte man hämorrhagisches Exsudat, das sich von der Impfstelle auf die übrigen Teile des Bauches erstreckte.

Der Darm wies die gewöhnlichen anatomischen Veränderungen auf; Milz hypertrophisch mit hämorrhagischen Flecken; Leber und Nieren dunkelfarbig, Nebennieren stark gerötet.

In allen Organen fanden sich Bacillen.

Immunisation.

Zu den Agglutinationsversuchen, die ich vornehmen wollte, immunisierte ich, um mir ein spezifisches Serum zu bereiten, zwei große Kaninchen folgendermaßen:

Kaninchen No. 1 Initialgewicht 1900 g
„ „ 2 „ 1750 „

Am 1. Tage injizierte ich beiden Kaninchen subkutan 1 ccm einer 24 Stunden alten, 20 Minuten lang bei 60° C gehaltenen Bouillonkultur; am 4. Tage 1 ccm einer 24 Stunden alten, 20 Minuten lang bei 60° C gehaltenen Bouillonkultur; am 9. Tage 1 ccm einer 15 Tage alten Kultur in mit Glukose versetzter Bouillon, in welcher die Bacillen vor einiger Zeit, infolge der Säure, die sich im Nährmittel gebildet hatte, zu Grunde gegangen waren.

Kaninchen No. 1 Gewicht 1850 g
„ „ 2 „ 1760 „

Am 24. Tage injizierte ich jedem Kaninchen 1 ccm einer 24 Tage alten, 20 Minuten lang bei 60° C gehaltenen Kultur in mit Laktose versetzter Bouillon.

Kaninchen No. 1 Gewicht 1801 g
„ „ 2 „ 1700 „

Am 28. Tage 2 ccm einer 10 Tage alten, 20 Minuten lang bei 60° C gehaltenen Bouillonkultur.

Kaninchen No. 1 Gewicht 1999 g
„ „ 2 „ 1800 „

4 Tage nach der letzten Injektion fand ich das Kaninchen No. 2 in der Seitenlage, mit schwerem, beschleunigtem Rippenbauchatmen.

Das Kaninchen No. 1 war etwas deprimiert und hatte eine Conjunctivitis catarrhalis.

Dem Kaninchen No. 2 öffnete ich unter den notwendigen Vorsichtsmaßregeln die rechte Carotis und entnahm so viel Blut als ich konnte, um das Serum daraus zu sammeln.

Das Tier starb nach der Blutentziehung und ich nahm sogleich die Nekroskopie vor.

Bauchhöhle: reichliches seröses Peritonealexsudat, Koprostase besonders im großen Grimmdarm, subseröse ekchymotische Flecken. Magen durch Gas stark ausgedehnt; sonst nichts Abnormes.

In den mikroskopischen Präparaten und den auf flötenschnabelförmig erstarrtem Agar angelegten Kulturen erwiesen sich das Blut, das Peritonealexsudat, die Leber und Milz als steril.

Das Kaninchen No. 1 fand ich am 7. Tage nach der letzten Injektion tot; die Augenlider waren durch serös-schleimigen Katarrh zusammengeklebt.

Bei der Nekroskopie wurden die gleiche Koprostase, die gleichen subserösen Ekchymosen im großen Grimmdarm, das gleiche Peritonealexsudat und außerdem auch etwas Exsudat in der Pleurahöhle angetroffen.

Die inneren Organe und das Blut erwiesen sich als steril.

Agglutination.

Zum Studium der Agglutinationserscheinungen bediente ich mich zweier spezifischer Sera: des Serums, das ich aus dem dem Kaninchen No. 2 entzogenen Blute gewonnen hatte und eines Antityphusserums mit einem Agglutinierungsvermögen bis zu 1 : 10000.

Die Agglutinierungsversuche nahm ich an dem von mir isolierten Bacillus und an ganz frischen Kulturen verschiedener sicherer Typhusbacillen- und Bact. coli-Stämme vor, und zwar prüfte ich bei einigen Experimenten verschieden titulierte Mischungen von Serum und Kulturen am hängenden Tropfen, während ich bei anderen einige Tropfen Serum in die Kulturröhren goß und die Agglutination nach dem in ihnen erfolgten Niederschlag bestimmte.

Ich glaubte, vergleichshalber Versuche am Bact. coli und am Typhusbacillus vornehmen zu müssen, weil der von mir isolierte Keim bezüglich einiger Merkmale eine gewisse Aehnlichkeit mit jenen Mikroorganismen hat.

Serum vom Kaninchen No. 2. Nach 30 Minuten agglutinierte es den Bacillus, der zur Immunisierung des Kaninchens verwendet wurde, leicht bei 1 : 500, gut bei 1 : 400, kräftig bei 1 : 300.

Bei 1 : 100—200 erfolgte sofort Immobilisation und nach ungefähr 1 Minute vollständige charakteristische Agglutination.

Ein Tropfen Serum agglutinierte in 24 Stunden leicht 5 ccm einer Bouillonkultur, 3 Tropfen agglutinierten sie in demselben Zeitraum fast vollständig. Zwei Bact. coli-Stämme des Laboratoriums wurden im hängenden Tropfen nicht einmal bei Mischung von Serum und Kultur zu gleichen Teilen agglutiniert; 5 Tropfen Serum gaben in 5 ccm Kultur gar keinen Niederschlag.

Ein anderes Bact. coli des Laboratoriums wurde in Verdünnung 1 : 10 leicht agglutiniert, in größeren Verdünnungen gar nicht, und Niederschlag fand selbst bei Zusatz von 5 Tropfen Serum zu 5 ccm Bouillonkultur nicht statt.

Zwei Typhusbacillenstämme wurden in Verdünnung von 1 : 10 bis 1 : 20 nicht agglutiniert; 3—5 Tropfen Serum bewirkten in einer Bouillonkultur in 24 Stunden keine Agglutination.

Antityphusserum. Dieses Serum bewirkte auch in Proportion von 1 : 10000 Agglutination in den Typhusbacillenkulturen.

Es agglutinierte meinen Bacillus leicht bei 1 : 30, gut bei 1 : 10; 3—5 Tropfen Serum riefen in einer Bouillonkultur keinen Niederschlag hervor.

Hämolysin.

Ehrlich[1]) war der erste, der die Hämolyse durch die Stoffwechselprodukte des Tetanusbacillus in vitro studierte; nach ihm studierten andere Forscher die Hämolysine anderer Bakterien.

Besredka[2]) veröffentlichte im September 1903 einen Artikel, in welchem er alles, was bis dahin über die Bakterienhämolysine bekannt war, zusammenfaßte. Er teilt sie in Bezug auf ihr Verhalten der Hitze gegenüber in zwei Klassen, die thermolabilen und die thermostabilen

---

1) Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 12. p. 273.

2) Besredka, Les hémolysines bactériennes. (Bull. de l'Inst. Pasteur. T. I. No. 14 du 15 Septembre 1903.)

Hämolysine. Die ersteren werden durch eine hohe Temperatur (100 bis 120°) zerstört, welcher dagegen die letzteren widerstehen.

Ich habe das Hämolysin des von mir isolierten Bacillus bereitet und studiert und teile hier die Resultate meiner Untersuchungen mit:

200 ccm einer Löfflerschen Mischung, entweder einer neutralen oder einer in solchem Grade gesäuerten, daß 100 ccm derselben im Säuregehalt 8 ccm einer 10fach normalen Oxalsäurelösung entsprachen[1], verteilte ich in mehrere Glaskolben, die ich nach vorgenommener Infektion in den Brutschrank setzte; nach Verlauf einiger Zeit prüfte ich die mittels Berkefeld-Filters erhaltenen Filtrate nach folgendem, allgemein üblichen Verfahren auf ihren Hämolysingehalt:

Ich verteilte die zu untersuchende Filtratmenge in mehrere Gläschen und setzte von einer 0,85-proz. Chlornatriumlösung dem Filtrat so viel zu, bis ich mit diesem zusammen 2 ccm hatte. Hierauf defibrinierte ich Blut, zentrifugierte es, dekantierte dann das Serum und fügte an dessen Stelle eine gleiche Menge einer 0,85-proz. NaCl-Lösung hinzu.

Nach wiederholter Spülung schüttelte ich die Ablagerung in der NaCl-Lösung und goß einen Tropfen davon in jedes der Kulturenfiltrat enthaltenden Gläschen.

Ich verwendete Hunde-, Rinder-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hühnerblut.

Das mit anfänglich neutraler Bouillon bereitete Hämolysin hat beinahe das gleiche Vermögen wie das mit saurer Bouillon bereitete; das eine und das andere werden bald alkalisch.

Die Filtrate von 2 Tage alten Kulturen haben kein hämolytisches Vermögen, wenigstens nicht den Erythrocyten vom Hunde, Rind, Kaninchen, Meerschweinchen und Huhn gegenüber, an welchen ich sie prüfte.

Die Filtrate von 6 Tage alten Kulturen dagegen enthalten ein Hämolysin, das Hundeblut gegenüber ziemlich wirksam ist, aber auf Kaninchenblut nur wenig und auf Rinder- und Hühnerblut gar keine Wirkung hat.

In den nachstehenden Tabellen habe ich den hämolytischen Grad dieser Filtrate angegeben: — bedeutet, daß Hämolyse gar nicht vorhanden ist, —+ daß nur geringe Spuren bestehen, + daß das von den Blutkörperchen diffundierte Hämoglobin nur die unteren Schichten der Flüssigkeitssäule färbt, 2+ bedeutet Diffusion von Hämoglobin in der ganzen Flüssigkeit, aber mit Ansammlung der Blutkörperchen am Boden der Röhre, 3+ daß die Flüssigkeit rot ist, aber am Boden der Röhre Blutkörperchenstromata sich abgelagert haben, 4+ bedeutet vollständige Hämolyse.

I. Defibriniertes Hundeblut.

Filtrat von 6 Tage alter Kultur		
in neutraler Bouillon	in saurer Bouillon	
$^1/_{10}$ ccm +	+	
$^1/_4$ „ 2+	2+	Kontrollröhre
$^1/_2$ „ 4+	3+	„
1 „	4+	

---

[1] Kayser, (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1903. p. 118—138) hat beobachtet, daß Cholysin nur in diesen Säuregrad besitzender Bouillon sich bildet.

II. Defibriniertes Kaninchenblut.

Filtrat von 6 Tage alter Kultur		
in neutraler Bouillon	in saurer Bouillon	
$^1/_{10}$ ccm —	—	
$^1/_4$ „ +—	—	Kontrollröhre
$^1/_2$ „ +	+—	„
1 „ 2+	+	

III. Defibriniertes Hundeblut.

Filtrat von 6 Tage alter Kultur, 30 Minuten lang bei 60° erwärmt		
in neutraler Bouillon	in saurer Bouillon	
$^1/_{10}$ ccm —	—	
$^1/_4$ „ +—	+—	Kontrollröhre
$^1/_2$ „ +	+	„
1 „ 2+	2+	

IV. Defibriniertes Hundeblut.

Filtrat von 6 Tage alter Kultur, 30 Minuten lang bei 120° gehalten		
in neutraler Bouillon	in saurer Bouillon	
$^1/_{10}$ ccm +	+	
$^1/_4$ „ 3+	3+	Kontrollröhre
$^1/_2$ „ 4+	4+	„
1 „		

Dieses Hämolysin gehört also zur Klasse der thermostabilen, denn sein hämolytisches Vermögen wird durch 30 Minuten langes Verweilen im Thermostat bei 120° nicht beeinträchtigt. Aus den Tabellen geht jedoch etwas hervor, was paradox scheint, und was ich nicht zu erklären wüßte, nämlich daß das hämolytische Vermögen des Filtrats bei 60° eine Abschwächung erfährt, bei 120° dagegen unverändert bleibt.

Toxin.

Wie ich bereits bemerkte, gingen die Kaninchen, die ich zur Gewinnung eines spezifischen Serums zwecks Studiums der Agglutinationserscheinungen immunisierte, 28 Tage nach subkutaner Injektion von nur 6 ccm abgetöteter Kulturen verschiedenen Alters zu Grunde; auch beschrieb ich bereits die bei den Kaninchen während des Lebens aufgetretenen Symptome sowie die bei der Nekroskopie konstatierten Veränderungen, die in reichlichem serösen Peritoneal- (bei einem Tiere auch in Pleural-) Exsudat und subserösen ekchymotischen Flecken, besonders am großen Grimmdarm, bestanden.

In der Folge habe ich einigen Kaninchen ein Filtrat in die Venen injiziert, das ich aus einer 20 Tage lang im Thermostat gelassenen Kultur erhalten hatte: 1 ccm dieses Filtrats rief bei einem Kaninchen von 1500 g Gewicht nach 5—6 Tagen den Tod hervor; die Tiere, denen ich $^1/_2$ ccm injizierte, blieben entweder am Leben oder gingen erst nach etwa 20 Tagen zu Grunde.

Die Tiere wurden nach der Injektion traurig, fraßen wenig, hielten die Augenlider halb geschlossen, die in der Folge ein serös-schleimiges oder schleimig-eiteriges katarrhalisches Sekret absonderten; anfangs entleerten sie hellen, etwas glänzenden Kot, aber 1—2 Tage vor dem Tode hatte dieser nicht mehr Kugelform, sondern trat cylindrisch gestaltet aus dem Rectum.

Bei der Nekroskopie wurden die gleichen Veränderungen angetroffen, wie bei den beiden Kaninchen, die der Immunisation unterworfen worden waren.

Abschwächung.

Vor kurzem wollte ich feststellen, ob der Keim, der ungefähr 5 Monate lang in Agar als Saprophyt gelebt hatte, und während dieser Zeit im Dunkeln bei etwa 20° gehalten worden war, nichts von seiner Virulenz eingebüßt habe.

Ich übertrug ihn zu diesem Zwecke in Bouillon und injizierte jungen Meerschweinchen 1 ccm einer 24-stündigen Kultur.

Das Resultat war, daß die Meerschweinchen nicht mehr, wie es bei den ersten Experimenten geschah, in 18—20 Stunden, sondern erst nach 3—5 Tagen zu Grunde gingen.

Dies tut dar, daß der Keim durch Weiterzüchtung auf einem künstlichen Nährboden eine Abschwächung in seiner Virulenz erfahren hat.

* * *

So viele Nachforschungen ich auch in Büchern und wissenschaftlichen Journalen machte, fand ich doch nichts, was auf einen Bacillus hindeutete, der sich mit dem hier von mir beschriebenen identifizieren ließe. Ich halte ihn deshalb für eine neue Species und habe ihm, zu seiner Charakterisierung, mit Bezug auf das Tier, von welchem ich ihn in Reinkultur erhielt, den Namen Bacillus caticida gegeben.

* * *

Den Herren Proff. Sclavo und Ottolenghi, die mir bei vorliegender Arbeit mit Rat und Tat an die Hand gingen, sage ich meinen aufrichtigsten Dank.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Josef-Universität Kolozsvár
(Direktor: Dr. Josef v. Lőte, o. ö. Prof.)]

Von Dr. **Daniel Konrádi,** Assistenten.

In einer vorläufigen Mitteilung[1]) berichtete ich über Untersuchungen, die den Zweck hatten, experimentell zu erforschen, ob es nicht gelingen würde, mit lokaler Behandlung, die in kurzer Zeit nach der Infektion folgt, den Ausbruch der Lyssa zu verhindern.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903.

Die Untersuchungen, in denen beabsichtigt wurde, die Verhältnisse der natürlichen Infektion experimentell nachzuahmen, wurden folgendermaßen geordnet:

Es wurde die Ohrspeicheldrüse eines an experimenteller Wut eingegangenen Hundes unter allen Kautelen zerschnitten, mit wenig 0,6-proz. NaCl-Lösung zerrieben und dann durch ein Tuch gepreßt. Mit diesem Saft wurden die Versuchstiere infiziert.

Nach Abrasieren der Haare wurde die Haut des Oberschenkels ohne vorläufige Desinfektion skarifiziert, wobei dafür gesorgt wurde, daß an der Skarifikationsstelle kein Blut hervorquoll. Es wurde ein in Speicheldrüsensaft getauchter Pinsel einmal über die Infektionsstelle gestrichen, dann nach bestimmter Zeit mit 1-prom. Sublimatlösung gut ausgewaschen, schließlich nach der gründlichen Desinfektion mit einem Verband versehen.

Im ganzen wurden 13 Kaninchen in der beschriebenen Weise infiziert, wovon 3 zur Kontrolle blieben, da sie gar nicht behandelt wurden.

Die behandelten Tiere blieben am Leben, die nicht behandelten gingen an typischer Wut ein.

Es war bei allen 3 Kontrolltieren sowohl die Dauer der Inkubation als auch die des Stadium morbi auffallend lang. Das Stadium incubationis dauerte 174, 177 bezw. 289, das Stadium morbi 12, 24 resp. 40 Tage.

Damals zog ich den praktischen Schluß, daß es auch beim Menschen gelingen würde, im Falle kleinerer Verletzungen mit einer innerhalb 10 Minuten unternommenen Lokalbehandlung den Ausbruch der Wutkrankheit zu verhindern, was in der Praxis, besonders bei Laboratoriumsinfektionen, von der größten Bedeutung sein dürfte.

Aus diesem Grunde wurden die Untersuchungen in derselben Weise wie zuerst fortgesetzt, um die Zeit zu erforschen, binnen welcher mit einer Lokalbehandlung Erfolg erreicht werden könnte.

Die Versuche zerfallen in 2 Gruppen. In der I. Untersuchungsreihe wurde die Haut des Oberschenkels, in der II. die Nasenspitze skarifiziert und nach der Infektion lokal behandelt.

I.

Am Oberschenkel wurden 23 Kaninchen infiziert am 25. November 1902. Diese sind in der folgenden Tabelle angeführt.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Infektionsstelle des Kaninchens No. I nach 11, die des No. II, III—XX nach 12, 13—30 Minuten lokal behandelt wurde. Kaninchen No. XXI und XXII blieben zur Kontrolle, sie wurden nicht behandelt. Das Kaninchen No. XXIII wurde subdural geimpft und ging nach 12 Tagen an typischer Wut ein, womit ich mich über die Reinheit des Infektionsstoffes nicht nur durch Aussaaten auf Agar-Agar, sondern auch durch das Tierexperiment überzeugen konnte. Dieses Experiment zeigt auch die Virulenz des Virus, das zur Infektion diente.

Ich muß auch zugleich bemerken, daß diese Tiere an einem separaten Orte lebten, wo andere nicht hinkommen konnten, und daß alle mit einem sicher kennbaren Zeichen versehen waren.

Die Infektionsstelle heilte bei allen Tieren ohne eine fremde Infektion, die Haare wuchsen wieder und sie fühlten sich so wie die gesunden.

Tabelle I.

Nummer des Kaninchens	Körpergewicht (Gramm)	Zeit der Lokalbehandlung	Resultat
I	1900	nach 11 Minuten	Bleibt am Leben
II	2100	„ 12 „	„ „ „
III	1700	„ 13 „	† an Wut nach 465 Tagen
IV	1400	„ 14 „	Bleibt am Leben
V	2000	„ 15 „	„ „ „
VI	1600	„ 16 „	„ „ „
VII	2700	„ 17 „	„ „ „
VIII	2900	„ 18 „	„ „ „
IX	2300	„ 19 „	„ „ „
X	1500	„ 20 „	„ „ „
XI	1900	„ 21 „	„ „ „
XII	2400	„ 22 „	„ „ „
XIII	1800	„ 23 „	„ „ „
XIV	2200	„ 24 „	„ „ „
XV	1700	„ 25 „	„ „ „
XVI	1400	„ 26 „	„ „ „
XVII	1900	„ 27 „	„ „ „
XVIII	1300	„ 28 „	„ „ „
XIX	1500	„ 29 „	„ „ „
XX	1500	„ 30 „	„ „ „
XXI	1600	Kontrolltier	† an Wut nach 412 Tagen
XXII	1700	„	† „ „ „ 424 „
XXIII	1500	subdural geimpft	† „ „ „ 12 „

Das Kontrolltier No. XXI ist am 404. Tage nach der Infektion traurig, frißt nicht, zittert, der Hinterleib ist schwach, bald folgt eine Lähmung der Hinterbeine. Das Tier geht nach einer Krankheitsdauer von 8 Tagen zu Grunde. Gewichtsverlust um den dritten Teil des ursprünglichen. Die Sektion zeigte außer der großen Magerkeit und Hyperämie des Gehirns nichts Auffallendes. Die aus dem Gehirn angelegten Aussaten blieben steril. 2 mit seinem verlängerten Rückenmarke unter die harte Hirnhaut geimpften Meerschweinchen gingen nach 20-tägiger Inkubation und 4-tägiger Krankheit an typischer Wut ein.

Das zweite Kontrolltier, Kaninchen No. XXII zeigt 415 Tage nach der Infektion dasselbe Bild und geht nach einer Krankheitsdauer von 9 Tagen an typischer Wut ein. Die von diesem Tiere subdural geimpften Meerschweinchen erkrankten nach 21 Tagen an Wut und gingen binnen 5 Tagen zu Grunde.

Die behandelten Kaninchen waren zu dieser Zeit noch alle gesund.

Am 25. Februar 1904, also nach 456 Tagen, bricht beim Kaninchen No. III, dessen Wunde nach 13 Minuten behandelt wurde, die Wut aus und tötet das Tier nach einer Krankheitsdauer von 9 Tagen. Die mit seinem Rückenmarke geimpften Meerschweinchen bekommen die Wut nach 18 Tagen und gehen nach 3, resp. 2 Tagen daran zu Grunde.

Die übrigen behandelten Kaninchen sind nach 700 Tagen gesund, sie nahmen an Gewicht zu und vermehrten sich auch.

II.

An der Nasenspitze wurden 15 Kaninchen infiziert am 1. Dezember 1902. Diese sind in der Tabelle II angeführt.

Wie diese Tabelle beweist, wurde die Infektionsstelle des Kaninchens No. I nach 3, diejenige des No. II, III—XIII nach 4, 5—15 Minuten lokal behandelt. Die Kaninchen No. XIV und XV blieben zur Kontrolle, sie wurden nicht behandelt.

Tabelle II.

Nummer des Kaninchens	Körpergewicht (Gramm)	Zeit der Lokalbehandlung	Resultat
I	1400	nach 3 Minuten	Bleibt am Leben
II	2000	„ 4 „	† an Wut nach 382 Tagen
III	2300	„ 5 „	Bleibt am Leben
IV	2500	„ 6 „	„ „ „
V	2400	„ 7 „	„ „ „
VI	2100	„ 8 „	„ „ „
VII	1600	„ 9 „	„ „ „
VIII	1500	„ 10 „	„ „ „
IX	2100	„ 11 „	„ „ „
X	1600	„ 12 „	„ „ „
XI	2000	„ 13 „	† an Wut nach 529 Tagen
XII	1300	„ 14 „	Bleibt am Leben
XIII	2100	„ 15 „	„ „ „
XIV	1700	Kontrolltier	† an Wut nach 453 Tagen
XV	1350	„	† „ „ „ 570 „

Das Kontrolltier No. XIV erkrankt 446 Tage nach der Infektion an Wut und geht nach 7-tägiger Krankheitsdauer daran zu Grunde. Von den 2 aus diesem subdural geimpften Meerschweinchen ging das eine nach 25, das andere nach 29 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wutkrankheit ein.

Das zweite Kontrolltier, Kaninchen No. XV, zittert 412 Tage nach der Infektion; die Extremitäten, besonders das rechte Vorderbein, zeigen eine spastische Kontraktion. Dieser Zustand dauert weiter, das Zittern hingegen nur einige Tage. Am 567. Tage nach der Infektion wird das Tier wieder krank, zittert, frißt nicht, bald folgt eine Beckenlähmung und das Tier geht binnen 3 Tagen zu Grunde. Das aus demselben subdural geimpfte Meerschweinchen ging nach 29 Tagen unter den typischen Symptomen der Wut ein.

Aus dieser Untersuchungsreihe bekamen die Wut auch zwei behandelte Tiere, nämlich Kaninchen No. II und XI. Die Wunde des ersten wurde nach 4, die des zweiten nach 13 Minuten behandelt. Das Stadium incubationis dauerte beim Kaninchen No. II 368, bei No. XI 507 Tage, das Stadium morbi hingegen 14, resp. 22 Tage. Aus allen beiden wurden Meerschweinchen subdural geimpft, welche an Wut erkrankten, und zwar nach 26 Tagen die aus Kaninchen No. II infizierten, und nach 30 Tagen diejenigen, welche aus No. XI trepaniert wurden. Aus Kaninchen No. XI wurde auch unter die harte Hirnhaut von Kaninchen geimpft. Dasselbe hat am 11. Tage nach der Infektion Fieber, Status febrilis dauert 7 Tage lang. Am Ende desselben ist das Tier traurig, frißt nicht, verliert 200 g seines Körpergewichtes, aber nach 4-tägiger Krankheit geht es ihm wiederum besser, es frißt, die Temperatur ist wieder normal, es erreicht sein ursprüngliches Körpergewicht, wird sogar um 300 g schwerer. Am 157. Tage nach der Infektion wird es wieder krank und geht jetzt unter den typischen Erscheinungen der Wutkrankheit nach einer Krankheitsdauer von 9 Tagen zu Grunde.

Also ein zweiter Fall, bei welchem die ausgebrochene Wutkrankheit beim Kaninchen ausheilt und später rezidiviert.

Vergleichen wir diese Angaben mit den Erfahrungen, die bei der Lyssaforschung gemacht wurden, da wird der große Unterschied im Stadium incubationis und Stad. morbi sehr auffallend. Es sollen vorläufig nur diejenigen Fälle in Betracht genommen werden, in welchen der Infektionsstoff unter die harte Hirnhaut, also an den empfindlichsten Ort, gebracht wurde. Unter solchen Bedingungen erkrankt das Kaninchen gewöhnlich nach 12—21 Tagen, das Meerschweinchen etwas früher an Lyssa, welche das Kaninchen binnen 3—5, das Meerschweinchen in 1 bis 2 Tagen tötet. Wie lang sind diese zwei Stadien in den oben erwähnten Untersuchungen. Unwillkürlich kommt der Gedanke, daß der Infektionsstoff im langen Kampfe mit dem tierischen Organismus abgeschwächt wird.

Um dies zu beweisen, wurde aus dem Marke des Meerschweinchens, welches aus Kaninchen No. XI der II. Untersuchungsreihe subdural geimpft wurde und bei welchem die Inkubation 16, die ausgebrochene Krankheit 14 Tage lang dauerte, unter die harte Hirnhaut von Kaninchen und Meerschweinchen weitergeimpft. Das Meerschweinchen ging jetzt unter den Erscheinungen der Wut erst nach 33 Tagen zu Grunde, das Kaninchen hat am 11. Tage Fieber, ist dann 3 Tage hindurch fieberfrei, darauffolgend hat es während 4 Tage wieder Fieber, bleibt aber am Leben. Bei der Weiterimpfung aus dem Meerschweinchensmarke wird das Meerschweinchen in der 4. Generation erst nach 55 Tagen wutkrank, was deutlich beweist, daß der Ausbruch der Krankheit bei derselben Tierspecies fortwährend immer später eintritt.

Dieser Umstand war uns nicht unbekannt. Prof. v. Lőte[1]) hat bei 2 Untersuchungsserien bewiesen, daß, wenn das Lyssavirus in seiner Virulenz derart abgeschwächt wurde, daß es Kaninchen zu töten nicht mehr im stande ist, in einigen Generationen noch Meerschweinchen tötet, aber schließlich verankert das Virus auch in diesen Tieren.

Nach all diesen Untersuchungen ist die Dauer der Inkubation und die des Stad. morbi auffallend lang. Das Stad. incubationis wechselt ja zwischen 174 und 570 Tagen, das Stad. morbi kann auch 40 Tage lang sein.

Die Ursache dieses Umstandes könnte man in der kleineren Menge des Virus suchen. Erfahrungsgemäß enthalten ja die Speicheldrüsen eine geringere Quantität des Lyssavirus als das Zentralnervensystem. Sehr interessant sind in dieser Beziehung die Untersuchungen von Roux und Nocard[2]). Bei demjenigen Meerschweinchen, das mit solchem Speichel infiziert wurde, welcher 1 Tag vor der Erscheinung der klinischen Symtome entnommen war, dauerte die Inkubation 27 Tage, bei dem mit 2 Tage früher entnommenen 40, und 55, wenn der Speichel 3 Tage früher entnommen wurde, zum Beweis, daß die Inkubation von der Quantität des Virus abhängt.

Die Inkubation hängt auch von der Stelle der Infektion ab. Es ist ja allgemein bekannt, daß bei Kopfverletzungen die Inkubation kürzer ist, als bei denjenigen der Extremitäten.

Schließlich spielt bei der Beurteilung solcher Fragen auch bei den Versuchstieren die individuelle Empfänglichkeit eine große

---

[1]) Zur Kenntnis der experimentellen Hundswut. (Sitzungsberichte der medizin.-naturwissenschaftl. Sektion des „Erdélyi Múzeum Egylet“. Bd. XXV. 1903.)

[2]) A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés? (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IV. 1890. p. 163.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Rolle. Auf diese Weise meine ich erklären zu können, daß einige früher behandelten Kaninchen erkrankten, und daß die später behandelten am Leben blieben. Es seien in dieser Beziehung außer den schon in der vorläufigen Mitteilung erwähnten Fällen noch einige registriert. Bei unserer jetzigen Serie erkrankte in der 66. Generation das eine Kaninchen nach 12, das andere erst nach 35 Tagen, in der 71. Generation derselben Serie bricht die Wut bei einem Kaninchen wieder nach 12 und beim anderen nicht einmal nach 105 Tagen aus.

Konklusion.

1) Den Ausbruch der Wutkrankheit kann man mit einer Lokalbehandlung verhindern.

2) Diese Lokalbehandlung muß bei Verletzungen der Extremitäten innerhalb 12, bei Gesichtswunden binnen 3 Minuten folgen, kann aber auch nach 30 Minuten von Nutzen sein.

3) Die Lyssa kann auch rezidivieren, wie die anderen Infektionskrankheiten.

4) Das Lyssavirus scheint im schweren Kampfe mit dem tierischen Organismus in seiner Virulenz abgeschwächt zu werden.

5) Die individuelle Empfänglichkeit soll auch bei Laboratoriumsuntersuchungen in Betracht genommen werden.

Kolozsvár, am 28. Oktober 1904.

Nachdruck verboten.

Die Häufigkeit der Trematoden bei Rana esculenta Lin.

[Aus dem zoologischen Museum zu Königsberg i. Pr.].

Von **Johanna Hollack.**

Im 64. Jahrgang des Archivs für Naturgeschichte Bd. 1, p. 69 hat Dr. Mühling eine Tabelle, betreffend die Häufigkeit der in *Rana esculenta* Lin. vorkommenden Parasiten, veröffentlicht.

Im November vorigen Jahres untersuchte ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Braun sowohl *Rana esculenta* Lin. als auch *Rana arvalis* Nils. = *Rana temporaria* Lin. auf das Vorkommen von Parasiten; von der letztgenannten Species kann ich jedoch keinen Prozentsatz für die in Frage kommenden Helminthen angeben, da nur drei Exemplare zur Verfügung standen. Gleich das erste Individuum dieser Art besaß zwei außergewöhnlich zahlreich bevölkerte Lungensäcke; in der einen Lunge waren nämlich 32 und in der anderen 23 Exemplare von *Haplometra cylindracea* (Zed.). Sämtliche von mir untersuchten Frösche waren Anfang November gefangen und stammten aus der Umgegend von Fischhausen (Ostpreußen).

In 83 Exemplaren von *Rana esculenta* Lin. fand ich:

Echinorhynchus ranae Schrank = *Echinorhynchus haeruca* Rud., nec. Lam.	54mal	= 67,4	Proz.,	im	ganzen	199	Individuen
Pleurogenes claviger (Rud.)	47 „	= 56,7	„	„	„	110	„
Diplodiscus subclavatus (Rud.)	44 „	= 53	„	„	„	129	„
Gorgodera cygnoides (Zed.)	41 „	= 49,4	„	„	„	95	„
Opisthioglyphe endoloba (Duj.)	25 „	= 30,1	„	„	„	57	„
Prosotocus confusus (Lss.)	25 „	= 30,1	„	„	„	74	„

Pneumonoeces variegatus (Rud. e p.) Lss. em.	20mal	= 24	Proz.,	im ganzen	78	Individuen
Halipegus ovocaudatus (Vulp.)	17 „	= 20,7	„	„ „	68	„
Pneumonoeces similis Lss.	16 „	= 19,2	„	„ „	41	„
Pleurogenes medians (Olss.)	13 „	= 15,6	„	„ „	31	„
Brandesia turgida (Brand.)	6 „	= 7	„	„ „	15	„
Nematoxys ornatus Duj.	1 „	= 1,2	„	„ „	1	„

Bei dieser Untersuchung fiel mir auf, daß die Darmtrematoden, ausgenommen *Prosotocus confusus* (Lss.), entgegen der Erwartung durchweg jüngere Exemplare waren, was wohl auf eine erst kurz vor dem Fang erfolgte Infektion hinweist. Bemerkenswert ist auch der große Unterschied der Nematodenfauna der von mir und von Mühling gegebenen Tabellen, während Mühling 40 Proz. Nematoden konstatierte, habe ich überhaupt nur 2 Exemplare gefunden: ein Weibchen von *Nematoxys ornatus* Duj. im Enddarm und einen anderen Nematoden, anscheinend eine *Filaria*, encystiert an der Wandung der Harnblase. Bezüglich anderer encystierter Parasiten kann ich Angaben nur über *Codonocephalus mutabilis* Dies. machen; derselbe war in *Rana esculenta* 44mal = 53 Proz. vorhanden. Ueber die Häufigkeit bezw. die Zahl der von mir gefundenen Helminthen gibt folgende Tabelle Aufschluß.

Bei einem Exemplar von *Rana esculenta* Lin. fanden sich:

Name	im Durchschnitt	höchstens	1Stck.	2Stck.	3Stck.	4Stck.	5Stck.	6Stck.	7Stck.	8Stck.	ferner noch
Echinorhynchus ranae	3,6 St.	17St.	10mal	18mal	9mal	3mal	7mal	4mal	—	—	2mal 9 Stck., 2mal 10 Stck u. 1mal 17 Stck.
Pleurogenes claviger	2,3 „	7 „	21 „	9 „	7 „	7 „	3 „	—	1mal	—	
Diplodiscus subclavatus	2,9 „	10 „	10 „	12 „	12 „	5 „	3 „	—	2 „	—	1mal 10 Stck.
Gorgodera cygnoides	2,3 „	8 „	17 „	12 „	6 „	—	3 „	1 „	1 „	1mal	
Opisthioglyphe endoloba	2,6 „	7 „	11 „	7 „	3 „	1 „	—	2 „	1 „	—	
Prosotocus confusus	2,9 „	8 „	10 „	2 „	5 „	3 „	2 „	—	1 „	2 „	
Pneumonoeces variegatus	3,9 „	20 „	10 „	3 „	2 „	—	1 „	—	—	—	2mal 10Stck., 1mal 11 Stck. u. 1mal 20 Stck.
Halipegus ovocaudatus	4 „	16 „	4 „	4 „	4 „	1 „	—	1 „	—	1 „	1mal 10 Stck. u. 1mal 16 Stck.
Pneumonoeces similis	2,5 „	8 „	7 „	3 „	2 „	1 „	2 „	—	—	1 „	
Pleurogenes medians	2,3 „	11 „	7 „	2 „	3 „	—	—	—	—	—	1mal 11 Stck.
Brandesia turgida	2,5 „	5 „	2 „	1 „	2 „	—	1 „	—	—	—	

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Aethylalkohols auf die Bildung von agglutinierenden Stoffen bei Kaninchen

nach intravenöser Impfung mit M. pyogenes aureus oder mit B. typhi.

[Aus dem hygienischen Laboratorium des königl. karol. med-chirurg. Institutes von Stockholm.]

Von **Germund Wirgin,** Stockholm.

Von den Aerzten wird fast einstimmig anerkannt, daß der chronische Gebrauch von Alkohol auf den Lauf infektiöser Krankheiten einen ungünstigen Einfluß ausübt, eine Auffassung, die durch die Untersuchungen von Laitinen[1]) u. a. experimentelle Stützen gewonnen hat. Fast ebenso einig ist man in der Ansicht von einer günstigen Einwirkung des Alkohols, wenn derselbe als einmalige oder wenige Mal wiederholte Dose bei gewissen akuten Infektionskrankheiten gegeben wird. Letztere Ansicht wird gestützt sowohl von den Beobachtungen vieler Aerzte als von allgemeiner Erfahrung. Mehrmals hört man nämlich Laien erzählen, wie ein anfangender Schnupfen, Influenza oder dergl. durch eine einmalige, ziemlich große Alkoholdose unterdrückt worden sei.

Auf dem Kongresse für Hygiene und Demographie in Brüssel Sept. 1903 hat Friedberger[2]) über eine vergleichende Untersuchung über die Bildung von Choleraambozeptoren bei alkoholisierten und nicht alkoholisierten Kaninchen berichtet. Die Versuchstiere wurden mit $^1/_{100}$—$^1/_{600}$ Oese bei 60° C abgetöteten Cholerakulturen geimpft. Der Alkohol wurde in 30-proz. Lösung mit der Schlundsonde in den Magen gegeben. Die Größe der Alkoholdosen wird als klein bezeichnet. Pfeiffer[3]), welcher diese Versuche von F. erwähnt, spricht sich folgendermaßen aus: „Auffällig begünstigt wurde die Immunkörperproduktion durch einmalige Verabfolgung von zwar berauschend, aber noch nicht toxisch wirkenden Alkoholdosen vor oder gleich nach der intravenösen Injektion des Vaccins.“ Am 8. Tage nach der Impfung wurde der bakteriolytische Titre der Sera nach Pfeiffers Methode untersucht. Die einmalige Darreichung von Alkohol vor der Impfung erhöhte das bakteriolytische Vermögen des Serums um 2,5mal im Vergleich mit dem gleichen Vermögen der Sera von Kontrolltieren. (Wiederholte Alkoholgaben setzten den Ambozeptorengehalt des Serums durchschnittlich bis zu $^1/_{16}$ des Serums der nicht alkoholbehandelten Kontrolltiere herab.)

Durch diese Studien von Friedberger veranlaßt, habe ich mir folgendes Thema vorgelegt: Wird die Bildung agglutinierender Stoffe bei Kaninchen, die mit Micrococcus pyogenes aureus oder mit Typhusbakterien geimpft worden sind, von einer nachfolgenden Darreichung von Alkohol beeinflußt? Die Kaninchen desselben Versuches wurden von möglichst gleichem Gewicht, Alter, Geschlecht und gleicher Rasse ausgewählt. Die Impfungen wurden in einigen Versuchen mit einer Kultur von M. pyogenes aureus, die etwa 1 Monat vor meinem ersten Versuche aus dem Eiter eines Panaritium isoliert worden war, in anderen Versuchen mit Typhusbakterien (Typhus III des hygienischen Laboratoriums) vorgenommen. Die 24-stündigen Kulturen wurden in Kochsalzlösungen von 0,8 Proz. emulgiert, wurden nachher durch Erwärmung im Wasserbad von 75° C während 20—30 Minuten abgetötet. 1 ccm der Emulsion (etwa einer Oese der Kultur entsprechend) wurde dem Kaninchen in eine Ohrvene eingespritzt. Der Alkohol wurde in 10-proz. Mischung mit Wasser dem Kaninchen mit Schlundsonde in den Magen eingegossen. Dem Kontrollkaninchen wurde auf dieselbe Weise die gleiche Menge von Leitungswasser gegeben. Der Alkohol wurde teils unmittelbar nach der Impfung,

---

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV. 1900. p. 206.

2) Friedberger, E., Ueber den Einfluß des Alkohols und der Mischvaccination auf die Intensität der Choleraambozeptorenbildung beim Kaninchen. (Congrès intern. d'hygiène et de démographie Bruxelles. 1903, Sept.)

3) Pfeiffer, Mode d'action et origine des substances actives des sérums préventifs et des sérums antitoxiques. (Rapport à Congrès intern. d'hygiène et de démographie Bruxelles. 1903, 2.—8. Sept.)

teils nach einem oder mehreren Tagen gereicht. Nach Baer[1]) ruft der Aethylalkohol in der Dose von 2,4—4,1 g pro kg Körpergewicht beim Kaninchen nur geringe Lähmungssymptome und mäßige Herabsetzung der Sensibilität hervor; erst 6,25—7,44 g pro kg verursachten größere Lähmungen und Exitus letalis. Die Alkoholdose wurde in meinen Versuchen auf höchstens 1 g pro kg bemessen. Dieselbe Dose würde für einen Menschen von 70 kg Körpergewicht der Alkoholmenge in $^1/_3$ l schwedischen Punsches, in einer Flasche (660 g) Bordeauxwein oder in etwa 6 Schnäpsen entsprechen. In der erwähnten Dose würden diese alkoholischen Getränke — auf einmal genommen — beim Menschen sicherlich eine kräftige Alkoholwirkung verursachen, wenn auch die Toxizität der Dose als nicht besonders groß anzusehen ist. Von dieser Dose von 1 g pro kg wurde das Kaninchen etwas berauscht, wurde schläfrig, fraß nicht, bewegte sich wenig und träge. — In einigen Versuchen wurde mit geringeren Alkoholmengen von $^1/_2$, $^1/_4$ und $^1/_{10}$ g pro kg Kaninchengewicht probiert. — Kleine Aderlässe um etwa 1 ccm wurden aus einer Ohrvene zwecks Serumgewinnung teils vor der Impfung, teils ein oder mehrere Mal nachher gemacht. Das Serum wurde nach 24-stündiger Aufbewahrung des Aderlaßblutes im Eisschranke abpipettiert.

Agglutinationsmethode I. Die Prüfung des agglutinierenden Vermögens der Sera wurde mit 24-stündigen Kulturen und ausschließlich makroskopisch vorgenommen. Es wurden mehrere Verdünnungen der Sera gemacht und 1 ccm aller Verdünnungen in schmale, etwa 3 ccm fassende Reagenzgläser gegossen. In jeder Probe wurde eine Oese von der betreffenden Kultur emulgiert. Beobachtung der im Brutschranke bei etwa 37° aufbewahrten Proben nach etwa 1 Stunde und nach etwa 24 Stunden. Kontrollemulsionen in 0,8-proz. Kochsalzlösung. Agglutination positiv, wenn anfangende Flöckchenbildung durch Lupe nach 1 Stunde nachweisbar war und die Probe nach 24 Stunden entweder ganz klar oder größere, scharf begrenzte Flöckchen in klarer Flüssigkeit enthielt.

Agglutinationsmethode II. In anderen Versuchen wurde die Agglutination in Tröpfchen der Serumverdünnungen auf Objektgläsern ausgeführt. Es wurde eine etwas trübe Emulsion der Bakterien in dem Tropfen gemacht und die Agglutination als positiv betrachtet, wenn innerhalb 2 Minuten in der Emulsion deutliche Gerinnung — scharf begrenzte Flöckchen in klarer Flüssigkeit — auftritt. Diese Methode gibt natürlich niedrigere Werte des Agglutinationsvermögens der Sera als die vorher erwähnte Methode. Der Gefahr der Verwechselung mit Pseudoagglutination war unschwer zu entgehen.

Betreffs der Bildung von agglutinierenden Stoffen im Blute von Kaninchen ist durch die Untersuchungen von Madsen und Jörgensen[2]) und Levin[3]) nachgewiesen, daß nach einmaliger Impfung mit Typhus-, Cholera- und Coli-Bakterien ihre Menge sich die ersten Tage nach der Impfung wenig vermehrt, sich dann steigert, um gewöhnlich den 9.—11. Tag nach der Impfung die höchste Spitze der Kurve zu erreichen.

---

1) Baer, Beitrag zur Kenntnis der akuten Vergiftung mit verschiedenen Alkoholen. (Arch. f. Anat. u. Physiol. Bd. XXII. 1898. p. 283.)

2) Jörgensen, Axel and Madsen, Thorvald, The fate of typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation. VI. (Salomonsens Festskr. Kopenhagen 1902.)

3) Levin, Ernst, Coli agglutinins and their course of formation. VII. (Salomonsens Festskr. Kopenhagen 1902.)

Aehnliches habe ich für die Sera von Kaninchen, die mit Pyogenes resp. Typhus geimpft worden waren, gefunden. Als die Sache schon vorher fast fertig war, habe ich nur 2 Kaninchen in dieser Beziehung von Tag zu Tag untersucht.

Tabelle I.

Werte des Agglutinationsvermögens des Kaninchenserums nach einmaliger Impfung mit:

M. pyogenes aureus
Agglutinationsmethode I
Normalserum agglutiniert nicht in 1:20

1. Tag n. d. Impf. Aggl.-Verm. geringer als	1:20	
2. „ „ „ „ „ „ „	1:20	nicht 1:40
3. „ „ „ „ „ „ „	1:25	„ 1:50
4. „ „ „ „ „ „ „	1:100	„ 1:200
5. „ „ „ „ „ „ „	1:100	„ 1:200
6. „ „ „ „ „ „ „	1:400	„ 1:600
7. „ „ „ „ „ „ „		
8. „ „ „ „ „ „ „	1:600	„ 1:800
9. „ „ „ „ „ „ „	1:300	„ 1:400
10. „ „ „ „ „ „ „		
11. „ „ „ „ „ „ „	1:300	„ 1:400
14. „ „ „ „ „ „ „		
16. „ „ „ „ „ „ „	1:200	„ 1:300

B. typhi
Agglutinationsmethode II
Normalserum agglutiniert 1:4 nicht 1:5

1. Tag n. d. Impf.	1:4	nicht 1:5
3. „ „ „ „	1:22	„ 1:25
5. „ „ „ „	1:160	„ 1:175
6. „ „ „ „	1:300	„ 1:350
7. „ „ „ „	1:400	„ 1:500
8. „ „ „ „	1:500	„ 1:600
10. „ „ „ „	1:175	„ 1:200
14. „ „ „ „	1:80	„ 1.100

Ohne weiteres geht aus der Tabelle I hervor, daß der Gehalt des Blutes an Agglutininen den 8. Tag nach der Impfung denjenigen der Tage vor und nach diesem Tage bedeutend übertrifft. Die Form der Kurve, welche in diesen Fällen die Steigerung der Agglutininbildung veranschaulichen sollte, verläuft nicht ganz so, wie die Kurve in früheren Untersuchungen anderer Forscher. Das beruht vielleicht auf Unähnlichkeiten der Agglutinationsmethoden. Das wichtige Detail haben meine

Kurven mit denjenigen anderer Autoren überein, daß sie am 8. Tage ihre höchste Spitze zeigen.

In meinem ersten Versuche über das vorliegende Thema schien die einmalige Alkoholdose die Bildung von agglutinierenden Stoffen ganz bedeutend zu steigern. Am 8. Tage nach der Impfung war nämlich der Wert des agglutinierenden Vermögens beim alkoholisierten Kaninchen 1 : 1200, während das Serum des Normalkaninchens ein agglutinierendes Vermögen von 1 : 600 darbot. Eine derartige relative Steigerung des Agglutinationsvermögens nach Alkoholdarreichung hat in den folgenden Versuchen sich nicht wiederholt. Ich bin deshalb geneigt, dieses Verhalten des Serums beim alkoholisierten Kaninchen als von individuellen Verhältnissen abhängig anzusehen; das Tier litt an einer Seborrhöe-ähnlichen Hautkrankheit mit Schüppchenbildung und Ausfall der Haare. Im Versuche waren die Anordnungen für die beiden Versuchstiere, von der Alkoholdose abgesehen, gleich.

In den nächstfolgenden Versuchen scheint der Alkohol gar keine oder sogar eine ungünstige Einwirkung auf die Agglutininbildung gehabt zu haben, wie aus der Tabelle II ersichtlich ist.

Tabelle II (Agglutinationsmethode I).

Die Alkoholdose wurde unmittelbar nach der Impfung gegeben.

Versuchs-No.	No. der Kaninchen	Gewicht der Kaninchen	Aussehen der Kaninchen	Alkoholdose	Tag der Impfung		Agglutinationsvermögen des Serums vor der Impfung	Agglutinationsvermögen am 7. Tage nach der Impfung
5	10	1450	weiß ♀	kein Alkohol	14. I. 04	Pyogenes	1 : 10 + 1 : 20 —	1 : 320 + 1 : 640 —
	11	1480	„ ♀	1/2 g pro kg	14. I. 04	„	1 : 20 + 1 : 40 —	1 : 320 + 1 : 640 —
								am 8. Tage nach der Impfung
7	12	2550	grau ♂ (belg.)	kein Alkohol	23. I. 04	„	1 : 160 ±	1 : 1600 + 1 : 2560 —
	13	3150	weiß ♂ (belg.)	1/2 g pro kg	23. I. 04	„	1 : 80 ±	1 : 320 + 1 : 800 —
								am 6. Tage nach der Impfung
8	13	2950	weiß ♂ (belg.)	kein Alkohol	2. II. 04	„	1 : 800 —	1 : 2000 + 1 : 3000 —
	12	2500	grau ♂ (belg.)	1 g pro kg	2. II. 04	„	1 : 1000 +	1 : 1000 + 1 : 1500 —

Eine **begünstigende** Einwirkung der einmaligen Alkoholgabe von 1/2 g pro kg auf die Agglutininbildung des Blutes scheint in Versuch 5 ganz ausgeschlossen. Wenn der Alkohol einen Einfluß in dieser Beziehung ausgeübt hat, so ist es ein ungünstiger. Die agglutinierende Kraft des Normalserums des alkoholisierten Kaninchens (11) ist ursprünglich etwas höher als diejenige des Kontrollkaninchens (10), zeigt jedoch am 7. Tage nach der Impfung nur die gleiche Höhe wie diese. In dem folgenden Versuch 7 (Tabelle II) tritt eine deutlich ungünstige Einwirkung der Alkoholgabe von 1/2 g pro kg hervor. 15 Tage vor dem Versuch 7, den 8. Januar 1904, hatte ich beide Kaninchen No. 12 und 13 auf die gleiche Weise mit Pyogenes geimpft; in demselben Versuch hatte No. 12, das jetzige Kontrollkaninchen, Alkohol nicht bekommen; Kaninchen No. 13 war 1/2 g Alkohol pro kg gegeben worden. Leider hatte ich nicht Gelegenheit, die Agglutininbildung nachher zu prüfen. Dieses um die nunmehr relativ hohen Werte der Sera zu erklären. Daß die Agglutininbildung beim alkoholisierten Kaninchen geschwächt ist, ist ganz deutlich. Man könnte vielleicht vermuten, daß Kaninchen No. 13

von Natur aus ein geringeres Vermögen besaß, agglutinierende Stoffe im Blute zur Entwickelung kommen zu lassen. Der folgende Versuch 8 (Tabelle II) widerspricht dieser Annahme und bringt die gleiche schwächende Wirkung von einer mäßigen Alkoholdose noch einmal zum Vorschein. 10 Tage nach der im Versuch 7 (Tabelle II) erwähnten Impfung wurden nämlich die beiden Versuchstiere No. 12 und 13 wieder mit Pyogenes geimpft. Kaninchen No. 13, dem im vorigen Versuche Alkohol gegeben worden war, wurde nun als Kontrollkaninchen benutzt, und das frühere Kontrollkaninchen wurde alkoholisiert. Die geringere Agglutininbildung beim alkoholisierten Kaninchen kommt deutlich zum Vorschein. Beide Versuchstiere No. 12 und 13 haben also ohne Alkohol eine viel kräftigere Anreicherung der Agglutinine als wenn Alkohol in der Dose von $^1/_2$ und 1 g pro kg gegeben wurde, gezeigt.

In den bisherigen Versuchen wurde der Alkohol den Tieren unmittelbar nach der Impfung gegeben. Möglich wäre, daß der Alkohol weniger günstig gewirkt hat, weil er gegeben wurde, ehe sich das Tier von dem Schwächezustande, der von der intravenösen Impfung wahrscheinlich verursacht wird, erholt hatte. In den zwei folgenden Versuchen 9 und 10 (Tabelle III) wurde der Alkohol am frühesten den Tag nach der Impfung gegeben. Alle die in den zwei untenstehenden Versuchen geimpften Kaninchen waren früher mit Pyogenes vacciniert worden und hatten alle Alkohol schon 1—3mal vorher bekommen. Etwa 6 Wochen waren aber verflossen, seitdem die letzten geimpft worden waren und Alkohol bekommen hatten.

Tabelle III (Agglutinationsmethode I).

Versuchs-No.	No. der Kaninchen	Aussehen der Kaninchen	Gewicht 17. III. 04	Gewicht 31. III. 04	Tag der Impfung	Alkoholdose	Tag nach der Impfung	Agglutination unmittelbar vor der Impfuug	Agglutination 8 Tage nach der Impfung
9	13	weiß (belg.)	3000	2950	18. III. 04	kein Alkohol	—	1 : 200 +	1 : 1000 +
	12	grau (belg.)	2600	2600	18. III. 04	1 g pro kg	3. Tag	1 : 200 $\overline{\pm}$	1 : 1000 $\overline{\pm}$
10	5	weiß	1600	1600	18. III. 04	kein Alkohol		1 : 200 $\pm$	1 : 1000 $\pm$
	6	weiß mit schwarzen Flecken	1700	1650	18. III. 04	1 g pro kg	1. „	1 : 200 +	1 : 500 +
	7	weiß	1800	1600	18. III. 04	1 „ „ „	5. „	1 : 200 $\mp$	1 : 500 $\mp$
	8	weiß	1700	1700	18. III. 04	1 „ „ „	7. „	1 : 300 $\overline{\pm}$	1 : 1000 $\overline{\pm}$

Aus den in der obenstehenden Tabelle angeführten Versuchen scheint mir klargelegt zu werden, daß die einmalige Alkoholgabe von 1 g pro kg bei keinem von den Versuchstieren die agglutininbildende Kraft wenigstens befördert hat. Wenn man den Versuch 10 ansieht, scheint sogar eine schädigende Einwirkung der Alkoholdose nicht abgesprochen werden zu können. Die agglutininbildende Energie ist besonders bei den beiden Versuchstieren vermindert, welche den Alkohol am frühesten nach der Impfung bekommen hatten. Der Alkohol scheint also bei keinem von den Versuchstieren einen stimulierenden Einfluß auf die Agglutininbildung ausgeübt zu haben; er scheint aber weniger geschädigt zu haben, je später nach der Impfung er gegeben wurde.

Bisher habe ich nur von Versuchen berichtet, wo eine einmalige Alkoholdose den Versuchstieren gegeben wurde. Ich habe auch einen Versuch gemacht, um die Wirkung mehrerer Alkoholgaben auf die

Agglutininbildung nach der Impfung mit Pyogenes-Kokken zu erforschen (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV (Agglutinationsmethode I).

Versuchs-No.	No.	Farbe	Gewicht	Tag der Impfung	Alkoholdose	Agglutination vor der Impfung	Agglutination am 7. Tage nach der Impfung
6	10	weiß ♀	1450	26. I. 04	kein Alkohol	1:200 + 1:300 —	1:1280 + 1:1600 —
	11	„ ♀	1500	26. I. 04	1 g pro kg unmittelbar nach der Impfung; die gleiche Dose noch 5mal während d. nächsten 5 Tage	1:200 + 1:300 —	1: 640 + 1: 800 —

Der erhebliche Unterschied an agglutinierender Kraft bei dem wiederholt alkoholisierten Kaninchen und beim Kontrollkaninchen geht ohne weiteres aus der Tabelle hervor. Der schädigende Einfluß des Alkohols, wenn er in wiederholten Dosen gegeben wird, hat sich also noch einmal bestätigt. Beide Kaninchen No. 10 und 11 wurden auch im Versuch 5 benutzt. Dem in Versuch 6 wiederholt alkoholisierten Kaninchen war in Versuch 5 eine einmalige Alkoholdosis von $^1/_2$ g pro kg gegeben worden; wie aus Tabelle II ersichtlich ist, erreichte das Serum von diesem Kaninchen damals die gleiche agglutinierende Kraft wie das Kontrollkaninchen. Eine natürliche Ungeneigtheit Agglutinine zu bilden, kann also das in Tabelle IV niedergelegte Resultat nicht verursacht haben.

In den vorausgehenden Versuchen sind die Tiere ausschließlich mit M. pyogenes geimpft worden. In einigen folgenden Versuchen habe ich die Einwirkung von Alkohol auf die Bildung von Agglutininen im Blute von Kaninchen nach Impfung mit B. typhi studieren wollen. Die Alkoholgaben sind in diesen Versuchen niedriger gewählt: $^1/_4$ und $^1/_{10}$ g pro kg. In dem ersten Versuche schien die Alkoholdose von $^1/_4$ g eine schwächende Einwirkung auf die Agglutininbildung auszuüben, wie aus den folgenden Zahlen hervorgeht.

Tabelle V.

Agglutinationsmethode II B. typhi

	Kontrollkaninchen, 1650 g, ♂ Titre des Serums		Alkoholisiertes Kaninchen, 1600 g, ♀ $^1/_4$ g Alkohol pro kg, unmittelbar nach der Impfung Titre des Serums	
Vor der Impfung	1:4 +	1:5 —	1:15 +	1:20 —
1. Tag nach der Impfung	1:4 +	1:5 —		
3. „ „ „ „	1:22 +	1:25 —	1:50 +	1:60 —
5. „ „ „ „	1:160 +	1:175 —	1:150 +	1:175 —
6. „ „ „ „	1:300 +	1:350 —	1:175 +	1:200 —
7. „ „ „ „	1:400 +	1:500 —	1:200 +	1:250 —
8. „ „ „ „	1:500 +	1:600 —	1:250 +	1:275 —
10. „ „ „ „	1:175 +	1:200 —	1:100 +	1:125 —
14. „ „ „ „	1:80 +	1:160 —	1:100 +	1:125 —

Eine nachteilige Wirkung von $^1/_4$ g Alkohol ist, wenn man die Tabelle V studiert, schwer zu verneinen. Ein paar folgende Versuche, über welche in der Tabelle VI berichtet wird, deuten auf dieselbe Sache.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

In den Versuchen der Tabelle VI ist auch die Wirkung von $^1/_{10}$ g Alkohol pro kg geprüft worden.

Tabelle VI (Agglutinationsmethode II).
B. typhi.

Versuchs-No.	No.	Farbe	Gewicht g	Gewicht g	Tag der Impfung	Alkoholdose	Tag der Alkoholdose nach der Impfung	Agglutination		Aderlaßtag nach der Impfung
	der Kaninchen							Titre des Normalserums	Titre des Serums nach der Impfung	
			23. IV. 04	2. V. 04						
12	16	weiß	1450	1475	24. IV. 04	kein Alkohol	7. Tag	1:4+1:5—	1 : 400 + 1 : 450 —	8. Tag
	17	„	1250	1200	24. IV. 04	$^1/_4$ g pro kg	7. „	1:4+1:5—	1 : 350 + 1 : 400 —	8. „
	18	weiß mit gelben Flecken	1000	1085	24. IV. 04	$^1/_{10}$ g pro kg	7. „	nicht 1 : 5	1 : 500 +	8. „
								Aderlaß 3. Tag nach der Impfung		
			4. VI. 04	18. VI. 04						
13	17	weiß	1400	1500	4. VI. 04	kein Alkohol	—	1 : 120 + 1 : 140 —	1 : 300 + 1 : 325 —	7. „
	18	weiß mit gelben Flecken	1300	1350	4. VI. 04	$^1/_4$ g pro kg während 3 Tagen	4., 5. und 6. Tag	1 : 100 + 1 : 120 —	1 : 300 + 1 : 325 —	7. „
	16	weiß	1700	1800	4. VI. 04	$^1/_{10}$ g pro kg während 3 Tagen	do.	1 : 100 + 1 : 120 —	1 : 100 + 1 : 150 —	7. „

Im obenstehenden Versuch 12 (Tabelle VI) scheint der Alkohol eine weniger herabsetzende Wirkung auf die Agglutininbildung als im vorigen Versuch (Tabelle V) gehabt zu haben. Dort schien die Alkoholdose eine Verminderung der Agglutininmenge um 50 Proz., mit dem Kontrollkaninchen den 8. Tag nach der Impfung verglichen, herbeigeführt zu haben, während die Herabsetzung hier kaum mehr als 10 Proz. beträgt. Im Versuch 13 (Tabelle VI), wo der Alkohol 3 Tage nacheinander gegeben wurde, hat dieselbe Dosis von $^1/_4$ g möglicherweise die Agglutininbildung etwas begünstigt. Ich schreibe möglicherweise, denn, wenn man den letzterwähnten Versuch ansieht, findet man, daß die begünstigende Einwirkung von $^1/_4$ g Alkohol pro kg nicht ganz klar ist. Bei dem mit dieser Alkoholdose behandelten Kaninchen hatte sich das Agglutinationsvermögen zu demselben Grade gesteigert wie beim Kontrollkaninchen. Der Anfangstitre des Serums jenes Kaninchens war aber etwas niedriger als derjenige des Kontrollkaninchens. Nur auf dieses Verhältnis stützt sich die mögliche Begünstigung des Agglutinationsvermögens durch den Alkohol ($^1/_4$ g pro kg). Unmöglich ist aber nicht, daß diese kleine Alkoholdosis auch in diesem Falle der Agglutininbildung anstatt genützt, sogar geschädigt hat. Dieses Kaninchen scheint ursprünglich eine große agglutininbildende Energie zu besitzen. Im Versuch 12 (Tabelle VI) zeigt nämlich dasselbe Tier einen vergleichsweise hohen Titre, welcher durch $^1/_{10}$ g Alkohol pro kg wohl kaum verschuldet werden kann, wenn man sieht, daß letztere Dose im Versuch 13 (Tabelle VI) keine Spur von stimulierendem Effekt auf die Agglutininbildung aufweist. Nach diesem Ueberlegen scheint es nicht ausgeschlossen zu sein, daß das Blut dieses Tieres im Versuch 13 (p. 206) ohne Alkohol ein viel beträchtlicheres Ansteigen des Agglutinationsvermögens als mit Alkohol gezeigt hätte. Aus der gleichen Ueberlegung neige ich der Ansicht zu, daß auch die Dose von $^1/_{10}$ g Alkohol pro kg für die Agglutininbildung ohne Nutzen gewesen ist. Etwas Bestimmtes darüber auszusagen, erlauben meine wenigen Versuche nicht.

Wenn ich meinen ersten, p. 203 erwähnten Versuch ausnehme, in welchem die Bildung agglutinierender Stoffe durch den Alkohol sehr begünstigt zu werden schien, so hat der Alkohol in allen späteren Versuchen, in der einmaligen Dose von 0,5—1 g pro kg Körpergewicht nach der Infektion gegeben, nie einen begünstigenden Einfluß auf die Agglutininbildung ausgeübt. Wenn der Alkohol in Dosen von 1 g pro kg während mehrerer Tage nach der Impfung gereicht wurde, trat eine deutlich herabsetzende Wirkung auf die Agglutininbildung ein. In derselben Beziehung scheint auch die einmalige Gabe von $^1/_2$—1 g pro kg zuweilen eine lähmende Einwirkung gehabt zu haben, besonders wenn der Alkohol unmittelbar nach der Impfung gegeben wurde. Je länger nach der Infektion die Darreichung der Alkoholdose aufgeschoben wurde, je weniger schien die schwächende Wirkung hervorzutreten. Auch die geringe Dosis von $^1/_4$ g Alkohol pro kg hat sich in 2 Versuchen schädigend, in einem Versuch vielleicht etwas begünstigend auf die Agglutininbildung erwiesen. Die Dose von $^1/_{10}$ g Alkohol scheint in derselben Beziehung das eine Mal begünstigt, das andere Mal geschädigt zu haben.

In solchen Versuchen wie den meinigen hängen die Resultate in hohem Grade von der Individualität der Versuchstiere ab. Das Blut des einen Tieres hat von Natur eine bedeutende Energie, nach Vaccinierung agglutinierende Stoffe zu bilden. Wenn ein derartiges Tier einer mäßig schwächenden Behandlung ausgesetzt wird, kann seine natürliche Energie jedoch hinreichen, um gleiche oder sogar größere Mengen von Schutzstoffen zu bilden als ein anderes Tier, dessen schutzstoffbildende Energie von Natur geringer ist, und umgekehrt. Durch meine Untersuchungen scheint sicher klargelegt zu sein, daß der Alkohol in Dosen von 1 und $^1/_2$ g die Agglutininbildung in der Regel nicht begünstigte und dieselbe meistens schädigte. Die von den individuellen Verhältnissen der Tiere kommende Fehlerquelle ist in den erwähnten Versuchen fast ausgeschlossen dadurch, daß die Tiere des einen Versuches in dem nächsten Versuche die Rollen wechselten, so daß das Normalkaninchen des ersten Versuches als „Alkoholkaninchen" im nächsten Versuche benutzt wurde und umgekehrt. Auf diesen individuellen Verhältnissen beruht es aber vielleicht, daß in den Versuchen mit den kleinen Alkoholdosen von $^1/_4$ und $^1/_{10}$ g pro kg die Resultate der verschiedenen Versuche sich widersprechen, so daß dieselbe Dosis bei 2 Tieren allem Anschein nach schädigend, bei einem anderen Tiere möglicherweise etwas begünstigend sich erwies, und daß die Alkoholdose von $^1/_{10}$ g pro kg das eine Mal die Agglutininbildung zu befördern, das andere Mal zu hemmen schien. Wie ich schon vorher p. 207 hervorgehoben habe, neige ich persönlich der Ansicht zu, daß auch diese kleinen Alkoholdosen für die Agglutininbildung von keinem Nutzen gewesen sind.

Wenn meine Untersuchungen also das Resultat gebracht haben, daß kleine Alhoholmengen von 1 g Alkohol pro kg und abwärts unter den gegebenen Versuchsbedingungen der Agglutininbildung in der Regel nicht nur nicht genützt, sondern meistens sogar geschädigt haben, erlauben meine wenigen Versuche die Schlußfolgerung nicht, daß die erwähnten kleinen Alkoholdosen der Agglutininbildung immer unter allen Bedingungen schädigen sollten, noch weniger kann man aus ihnen einen Schluß über den Wert des Alkohols als Heilmittel bei akuten Infektionskrankheiten ziehen. Als ein Beitrag zu unseren Kenntnissen von dem Einfluß des Alkohols auf den tierischen Organismus scheinen meine Untersuchungen vielleicht etwas Interesse zu verdienen, und habe ich sie deshalb ganz ohne Ansprüche veröffentlichen wollen.

Erst nachdem der obenstehende Aufsatz schon lange zum Druck versandt worden war, wurde mir die Abhandlung von Paul Müller[1]) bekannt. Müller hat in der zitierten Schrift unter anderem auch den Einfluß des Alkohols auf die Produktion von Agglutininen studiert. Kaninchen wurden mit abgetöteten Typhuskulturen intraperitoneal geimpft und die Agglutininmengen der Sera 2—4 Tage nachher bestimmt. Der Alkohol wurde in 50-proz. Mischung subkutan eingespritzt. Die erste Alkoholdosis wurde etwa 1 Stunde vor, die zweite etwa 1 Stunde nach der Impfung eingespritzt. Auch die folgenden Tage erhielten die Tiere Alkohol, so daß jedem Tier 30—40 ccm von absolutem Alkohol gegeben wurde. Unter 19 Experimenten hatte die Alkoholgabe die Agglutininbildung 2mal befördert, 12mal geschädigt, 5mal zusehends nicht beeinflußt. — Zu bemerken ist, daß meine Versuche mit erheblich kleineren Alkoholdosen etwa die gleichen Resultate betreffs der Agglutininbildung gegeben haben.

Nachdruck verboten.

Zur Spezifität der Antikörper.

Von Dr. **H. Lüdke,** Barmen.

(Fortsetzung.)

Bakterienagglutinine. War der Streit um die Spezifität der immunisatorisch erzeugten Reaktionskörper im Blutserum bei den meisten erwähnten Antistoffen lediglich auf wissenschaftlicher Basis gegründet, so entspann sich auf dem Boden der klinisch-diagnostischen Forschung in den letzten Jahren ein „kleiner Krieg“ um den Spezifitätscharakter der Bakterienagglutinine. Gehen wir zunächst die Ergebnisse diesbezüglicher Untersuchungen bei den verschiedenen, klinisch wichtigen Bakterien durch:

Bei einigen akut verlaufenden Erkrankungen, wie Cholera, Pest, kommt die spezifische Agglutinationsreaktion klinisch weniger in Frage; es handelt sich hier vielmehr um die Diagnostik des Infektionserregers. Zur Erkenntnis abgelaufener Cholerafälle ist nach Kolle und Gottschlich[2]) die Agglutination, mittels des Rekonvaleszentenserums ausgeführt, außerordentlich zuverlässig. Choleraähnliche Vibrionen werden von einem hochwertigen choleraimmunen Tierserum so gut wie gar nicht beeinflußt. Bei der Pest ist die Agglutinationsreaktion infolge ihres späten Auftretens weniger klinisch verwendbar; sie hat sich aber nach den bisherigen Angaben als eine spezifische Reaktion bewährt. Ein Immunpestserum von Pferden bietet ein durchaus spezifisches Hilfsmittel zur Identifizierung des B. pestis [Markl, Kolle, Martini[1])]. Untersuchungen über andere Bakterien, Pneumokokken, Meningokokken, Tuberkelbacillen, Rotzbacillen, Streptokokken und Staphylokokken, liegen bisher in zu geringem Material vor, so daß ein abschließendes Urteil noch nicht gefällt werden kann. Aus den bisherigen Untersuchungen geht aber hervor, daß die Agglutination mit Erfolg zur Erkennung der Infektion und zur Diagnose des spezifischen Krankheitserregers verwandt werden kann.

---

[1]) Müller, Paul Th., Ueber den Einfluß künstlicher Stoffwechselalterationen auf die Produktion der Antikörper. (Arch. f. Hygiene. Bd. LI. 1904. p. 365.)

[2]) Kolle und Gottschlich, Untersuchungen über die bakteriologische Choleradiagnostik und Spezifität des Kochschen Choleravibrio. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. Heft 1.)

Ueber den klinischen Wert und den damit eng verbundenen Spezifitätscharakter der durch bakterielle Dysenterie erzeugten Agglutinine existieren bis dato noch wenige sichere Resultate. Man nahm ein inkonstantes Vorkommen der Agglutinine im ruhrkranken Organismus an; es sollte die Reaktion namentlich bei schweren Fällen fehlen und im allgemeinen nicht stark ausgesprochen sein. Nach meinen demnächst zur Publikation kommenden Untersuchungen ist jedoch diese Annahme dahin zu modifizieren, daß die Agglutinationsreaktion in fast jedem, ob leichtem, ob schwerem Dysenteriefall deutlich ausgesprochen ist. Vollkommen spezifisch ist ferner die Agglutinationsreaktion in diesem Falle zur Identifizierung des Dysenteriebacillus von verwandten Arten durch ein entsprechendes hochwertiges Immunserum

Während nun in letzter Zeit die Frage von der spezifischen Wirkung der agglutinierenden Sera etwas in den Hintergrund gedrängt ist, befassen sich die einschlägigen Arbeiten mehr mit dem Studium des Wesens der Agglutination. Und doch ist für die Verwertung des Agglutinationsphänomens zu klinisch-diagnostischen Zwecken die Spezifitätsfrage von größter Bedeutung. In den folgenden Erörterungen will ich mich nur auf die Spezifität der Agglutinationsreaktion bei B. typhi, die klinisch am wichtigsten ist und in den letzten Jahren am meisten angefeindet war, beziehen.

In dem vorstehenden Ueberblick über die Agglutination bei einzelnen Infektionskrankheiten war von der überwiegenden Mehrheit der Autoren eine Spezifität der agglutinierenden Reaktionsprodukte im Serum gefunden worden, die man von der Identifizierung des spezifischen Krankheitserregers auf die spezielle klinische Erkenntnis des Krankheitsbildes übertrug, indem der positive Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion als eins der wichtigsten Symptombilder anerkannt wurde. Dennoch ist in jüngster Zeit öfter die Spezifität dieser eminent wichtigen Reaktion in Zweifel gezogen worden. Die ersten Zweifel tauchten bei vergleichenden Messungen der Agglutinationsfähigkeit der Sera bei den differentesten Erkrankungen mit dem Unterleibstyphus auf. Man nahm schließlich nach Sterns Vorgang an, die Widalsche Reaktion als eine spezifische dann zu erklären, wenn in einer Verdünnung der Typhusbouillonkultur von 1 : 50 deutliche Häufchenbildung der Bakterien eintrat. Für praktisch-klinische Zwecke erwies sich auch bis zur Zeit diese Grenzbestimmung als die geeignetste. — Weitere Bedenken entstanden in dem Moment, als von verschiedensten Seiten auch höhere Agglutinationswerte für nicht spezifische Erkrankungen

---

1) Markl, Kolle und Martini, cf. Dieudonné im Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. 1902. Lief. 9.

gefunden wurden. Grünbaum[1]) und Stern[2]) hoben zuerst hervor, daß das Serum Gesunder und Nichttyphuskranker bisweilen agglutinierende Wirkung äußerte. Solche Befunde, welche gegen die Spezifität der Bakterienagglutinine zu sprechen schienen, wurden hauptsächlich bei mit Ikterus einhergehenden Erkrankungen gemacht. Bei einzelnen, besonders infektiösen, Ikterusformen schien in der Tat eine gesteigerte Agglutinationskraft des Serums vorzukommen, was in den meisten Arbeiten hierüber auf die Gallenresorption ins Blut und dadurch entstehende veränderte Blutzusammensetzungsverhältnisse zurückgeführt wurde. Verf.[3]) konnte so in 11 von 37 Ikterusfällen eine Agglutinationskraft des Serums in einer Verdünnung von 1 : 50 und darüber nachweisen, was einen Prozentsatz von ca. 33 ausmacht.

Weiterhin fand Verf. bei 8 Fällen von Chlorose eine erhöhte Agglutinationsfähigkeit des Blutserums, worüber in noch zu publizierenden Untersuchungen weiter berichtet werden soll.

Diese Fälle einer erhöhten Agglutinationsfähigkeit des Serums von nicht typhuskranken Individuen lassen sich jedoch auf unkomplizierte Art erklären. Stern[4]) vertritt vor allem den Standpunkt, daß man den positiven Widal bei Fällen ikterischer Erkrankungen fast immer auf eine gleichzeitige oder vorhergehende Infektion mit meist anderen Bakterien als B. typhi zurückführen kann und in der Tat muß man dieser Anschauung öfter, besonders für höhere Agglutinationswerte, beipflichten, wenn auch meines Erachtens nicht nur eine Infektion die Ursache dieser gesteigerten, nicht spezifischen Agglutinationsfähigkeit bei ikterischen Erkrankungen ist. Es können in den Stoffwechsel gebrachte Substanzen — was von Köhler[5]) nicht mit Unrecht für die Gallenresorption acceptiert wurde —, es kann auch eine bloße Aenderung in den Blutzusammensetzungsverhältnissen (Chlorose), durch gesteigerten Stoffwechsel (Gravidität) eine deutliche Steigerung des Agglutinationstiters veranlaßt werden. Ich muß mich hierbei gänzlich auf die Ehrlichsche Seite stellen und kann in der Entstehung der normalen wie künstlichen Agglutinine nur einen Ausdruck der ähnlichen Zellsekretion sehen, die bei den Prozessen der Ernährung, der Assimilation und Desassimilation tätig ist.

Auffallend erscheint mir jedoch bei der Untersuchung über die Agglutinationsfähigkeit des Blutserums Ikterischer, daß von den einzelnen Autoren ganz differente Prozentsätze erhöhter Agglutinationskraft hierbei zitiert werden. Steinberg[6]) fand bei über 60 Proz. agglutinierende Wirkung des Serums bei Ikterus, Eckardt[7]) in fast allen Fällen Agglutination in einer Verdünnung von 1 : 100, Kämmerer[8]) nur bei etwas über 10 Proz., Lüdke bei 30 Proz. in einer Verdünnung von 1 : 50 und darüber. Die Ursache dieser differenten Angaben liegt sehr wahrscheinlich, wie auch Kämmerer angibt, an der Dignität des jeweilig benutzten Typhusstammes für die Reaktion. Stets werden aber ältere Laboratoriumsstämme nach allen Urteilen besser agglutiniert als frisch gezüchtete und wenn auch unter den ersteren geringere Differenzen bezüglich ihrer Agglutinierbarkeit bestehen mögen, so ergibt sich daraus noch durchaus nicht die absolute Notwendigkeit im Fickerschen Typhusdiagnostikum ein allein sicheres Mittel für die typische Serumdiagnostik zu erkennen.

---

[1]) **Grünbaum**, The Lancet. 1896. 19. Sept. u. Münch. med. Wochenschr. 1897. No. 13.

[2]) **Stern**, Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 12.

[3]) **Lüdke**, l. c.

[4]) **Stern**, Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 30.

[5]) **Köhler**, Klin. Jahrb. Bd. VIII. 1902.

[6]) **Steinberg**, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 11.

[7]) **Eckardt**, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 27.

[8]) **Kämmerer**, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 26.

Jedenfalls müssen wir bei ikterischen Erkrankungen, speziell katarrhalischem Ikterus, eine hohe Agglutinationsfähigkeit des Serums gerade dem Bact. typhi gegenüber annehmen; denn es wird, wie Verf. beschrieb, gerade das Bact. typhi intensiver und schneller hier agglutiniert als andere in die Untersuchung gezogene Bakterien (Bact. paratyphi A und B, Bact. coli, Vibrio cholerae, Bact. vulgare). Das Typhusbakterium scheint mir in diesen Fällen einer nicht spezifischen Agglutination die wirksamsten Agglutininrezeptoren zu besitzen, die ihr haptophores Glied am stärksten und häufigsten in solchen Fällen zu verankern vermögen. Voraussetzung ist dabei immer die Verwendung eines älteren Stammes, um gleichmäßige, zu Vergleichen dienende Resultate zu erlangen. Ich kann demnach in keiner Weise der Ansicht Kämmerers zustimmen, der bei Ikterus nur sehr selten Agglutination annimmt. Allerdings ist auch die Meinung Köhlers, der eine Herabsetzung des Wertes der Gruber-Widalschen Reaktion infolge des häufigen Auftretens derselben bei Erkrankungen der Leber und seltener des Blutes annahm, nicht berechtigt. Wir müssen — und das Gros der Untersucher über die Agglutinationskraft ikterischen Blutserums gibt mir recht -- eine gesteigerte Agglutinationsfähigkeit hier annehmen, die teilweise durch eine begleitende oder vorausgegangene Infektion mit differenten Bakterien oder durch Stoffwechselvorgänge veranlaßt werden kann. Keinesfalls kann jedoch diese nicht spezifische und auch nicht in der Stärke und Schnelligkeit der Reaktion wie bei Typhus auftretende Agglutination bei Ikterischen in Konkurrenz mit der durchaus spezifischen Reaktion beim Unterleibstyphus treten.

Der größte Teil dieser nicht spezifischen Sera findet seine Deutung in dem Phänomen der Gruppenagglutination Pfaundlers[1]). Unter Gruppenagglutination versteht man nach der ursprünglichen Pfaundlerschen Ansicht die nicht spezifische Beeinflussung anderer Mikroben durch ein Immun- oder Rekonvaleszentenserum, das durch die Einwirkung einer ganz bestimmten Bakterienart entstanden ist. Pfaundler war der Ansicht, daß der Agglutinationswert in dem Verhältnis sinke, wie sich der bezügliche Mikroorganismus in der Artenreihe vom infizierenden entferne. Zahlreiche Untersuchungen über die Gruppenagglutination ergaben aber, daß diese chemische Bindungsreaktion nichts mit der Verwandtschaft der Arten, die in morphologischen und biologischen Unterschieden besteht, zu tun hat. Stern[2]) ging, auf Dunbarschen Anschauungen fußend, dieser Pfaundlerschen Annahme zu Leibe, indem er im Protoplasma zweier Bakterien, die durch ein gleiches Serum zur Agglutination gebracht werden, gemeinsame Agglutininrezeptoren annahm, die im infizierten Organismus ihre passenden haptophoren Gruppen finden. So wirkt spezifisch jedes Einzelagglutinin, während

---

1) Pfaundler, Ueber Gruppenagglutination und das Verhalten des Bact. coli bei Typhus. (Münch. med. Wochenschr. 1892. No. 15.)

2) Stern, l. c.

im allgemeinen als nicht streng spezifisch die agglutinierende Wirkung eines Serums gegenüber dem infizierenden Bacillus angenommen werden muß.

Die in Ehrlich-Pfeifferschen Bahnen gewonnenen Vorstellungen vom chemischen Aufbau und chemischer Wirkungsweise der Bakterienzelle und ihrer Produkte gewinnen also auch hier ein freies Feld und verdrängen die alten Anschauungen von den morphologischen, mechanischen Gesetzen unterworfenen Formen.

Die Gruppenagglutination in diesem Sinne aufgefaßt, erleichtert uns wesentlich die Frage von der Spezifität der Bakterienagglutinine, so daß wir von einer Spezifität eines Serums nur reden können, wenn wir darunter die spezifische Einwirkung der einzelnen Agglutinintypen auf ihre verwandten Gruppen im Protoplasma der Bakterien verstehen.

Ein zweites Faktum, das bei der Betrachtung des Spezifitätsbegriffes der Agglutinine auszuschließen ist, gehört unter das Kapitel der nicht spezifischen Abwehrvorrichtungen, der Alexine des Serums. Es gibt Tiersera, so speziell das Ochsen- und Pferdeserum, die verschiedenen Bakterien gegenüber eine erhöhte Agglutinationskraft zeigen, ohne daß eine entsprechende Infektion stattgefunden hätte. Analoge Beobachtungen finden wir in dem Vorkommen von Antitoxinen im normalen Pferdeserum. Eine Mobilmachung dieser auch im menschlichen Serum häufiger anzutreffenden, schwach ausgebildeten Agglutinine kann unter den verschiedensten Verhältnissen geschehen; schon ein gesteigerter Stoffwechsel genügt, um die Agglutinationsfähigkeit eines Serums zu steigern. Stäubli[1]) konnte so bei graviden Meerschweinchen einen höheren Agglutinationstiter nachweisen als bei nicht tragenden Tieren. P. Th. Müller[2]) fand bei hungernden Tieren (Tauben) ein einer bestimmten Bakterienart gegenüber verschiedenes Verhalten der Agglutinine, indem die Hungertiere nach Injektion von Bact. typhi und Bact. pyocyaneus stets einen höheren Agglutiningehalt aufwiesen als die Kontrolltiere, während mit Bact. dysenteriae, Vibrio Metschnikoff und Bact. proteus geimpfte Hungertiere einen niedrigeren Agglutinationstiter den Normaltauben gegenüber zeigten.

Es sind lediglich Schwankungen im Agglutiningehalt eines Serums bei besonders disponierten Tieren oder Menschen, die bisweilen mit Steigerung, aber auch mit Herabsetzung der ursprünglichen, meist schwachen Agglutinationsfähigkeit des Serums einhergehen können. Die Fälle von Ikterus, in denen eine Gruppenagglutination nicht als bedingendes Moment angesehen werden kann, ergeben wohl infolge einer mäßigen Resorption von Galle ins Blut eine befriedigende Erklärung.

Endlich kann, abgesehen von einem passiven Uebertreten mütterlicher Agglutinine ins kindliche Blut, den Agglutinin sezernierenden Zellen für lange Zeit eine latente Energie innewohnen. Wenn auch in den ersten Wochen des extrauterinen Lebens die passiv übertragenen Agglutinine für die äußere Beobachtung wieder verschwinden, so ist doch nach diesbezüglichen Untersuchungen Coles[3]) den Agglutinin

---

1) Stäubli, Ueber die Bildung der Typhusagglutinine und den Uebergang von der Mutter auf die Deszendenten. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. No. 2/3.)

2) Müller, P. Th., Zur Theorie der mütterlichen und antibakteriellen Immunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1903. No. 5.)

3) Cole, Experimenteller Beitrag zur Typhusimmunität. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. Heft 3.)

sezernierenden Zellen die latente Fähigkeit geblieben, unter gewissen Reizzuständen mehr oder weniger reichlich Agglutinin rasch zu produzieren.

Von dieser natürlich vorhandenen Agglutinationsmöglichkeit im Blutserum muß also bei einer Beurteilung der Frage von der Spezifität abgesehen werden. Eine schon vorhandene Qualität der sezernierenden Zellen wird hierbei — wie es scheint, wahllos — in Schwankungen, die häufiger zu Steigerungen der Agglutinationskraft führen, gesetzt. Bei der spezifischen Produktion durch Immunisierung oder Infektion haben wir es dagegen immer mit dem Uebergewicht eines spezifischen Agglutinins zu tun.

Ganz aus dem Rahmen der Spezifität endlich fallen die Versuche, die sich mit der Agglutination verschiedener Bakterien durch differenteste chemische Substanzen befassen. So agglutiniert nach Blachstein[1]) Chrysoidin den Cholerabacillus, Bossaert und Lambotte[2]) agglutinierten den Typhusbacillus durch Formaldehyd; Safranin, Fuchsin und Vesuvin sollte nach Malvoz[3]) das Bact. typhi agglutinieren, ebenso 10-proz. Taurocholsäure nach Köhler[4]) den Typhusbacillus. Abgesehen von dem niedrigen Agglutinationswerte handelt es sich hier, wie ich mich besonders bei der Taurocholsäure überzeugen konnte, nicht nur um eine durchaus inkonstante Erscheinung, sondern auch um eine gänzlich unspezifische Qualität, indem verschiedene Bakterien in geringem Maße in gleicher Weise durch dieselbe Drogue beeinflußt werden. Analoge Versuche finden wir übrigens bezüglich der spezifischen Bindung des Tetanustoxins an bestimmte Organzellen angestellt. Stoudensky[5]) erbrachte den Nachweis, daß Karmin, mit Tetanustoxin vermischt, eine Bindung des Toxins veranlaßte und glaubte diesen Befund zu einer Deutung der spezifischen Bindung des Toxins an bestimmte Organemulsionen als einer Art von Flächenadsorption benutzen zu können, worin ihm jedoch von Wassermann[6]) erfolgreich widersprochen wurde.

Für die Agglutination bei Erkrankungen nicht typhöser Natur geben also das Phänomen der Gruppenagglutination wie die Erscheinung der natürlichen Resistenz, die außer bakteriolytischen Antikörpern auch Agglutinine zu produzieren vermag, befriedigenden Aufschluß. Von einer absoluten, qualitativen Spezifität der Agglutinine kann nicht die Rede sein; doch müssen wir, ebenso wie bei den natürlich vorkommenden Hämagglutininen, auch hier eine relative Spezifität der einzelnen, differenten Agglutinine gegenüber der entsprechenden Bakterienart acceptieren, was im weiteren experimentell festgelegt werden soll.

Eine absolute quantitative Spezifität finden wir dagegen bei der künstlichen Immunisierung mit Typhusbakterien und in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle bei der Typhusinfektion, und so handelt es sich ferner darum, die Verhältnisse der spezifischen Agglutination des Bact. typhi durch das entsprechende Immun- oder Rekonvaleszentenserum zu prüfen.

---

1) Blachstein, Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 44/45.

2) Bossaert u. Lambotte, Bull. de l'acad. royale de méd. Belgique. 1897.

3) Malvoz, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.

4) Köhler, l. c.

5) Stoudensky, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. 1899.

6) Wassermann, Entstehung und Wirkungsweise der aktiven Stoffe im Immunserum. (Ref. auf dem internat. Kongreß f. Hyg. in Brüssel. 1903. Sept.)

Das nicht allzu seltene Fehlen der Gruber-Widalschen Reaktion bei Typhus abdominalis scheint nun dem Gegner der Spezifitätsfrage einen willkommenen Anhaltspunkt zu bieten. Noch häufiger sind die Fälle eines äußerst späten Eintretens der Reaktion zu einer Zeit, in der die Diagnose schon auf Grund anderer Symptome gesichert ist [v. Leube[1]), Rumpf[2])]. Verf. verfügt über einen Fall schwerer Typhusinfektion, in dem bei wiederholter Untersuchung bis zum Exitus (Ende der 2. Woche) keine Reaktion, weder auf Paratyphus- noch auf Typhusbacillen eintrat. Ein spätes Auftreten typischer Agglutinine bei einer Infektionskrankheit, die im allgemeinen leicht zur Bildung dieser Reaktionsstoffe führt, der Dysenterie, konnte Verf. in mehreren Fällen beobachten, ohne daß aber die Reaktion bei späteren Untersuchungen gänzlich im Stiche ließ. In solchen Fällen, in denen zunächst ein negativer Ausfall der Reaktion stattfindet, kommt die weitere klinische Diagnostik zu ihrem Recht. Ich glaube das Fehlen der Agglutinationsreaktion so erklären zu können, daß in der betreffenden infizierenden Bakterienart die spezifische Komponente so toxisch ausgeprägt war, daß sie die zur Abstoßung von Rezeptoren zugehörigen Zellen lahmlegt, entweder die agglutininbildende Fähigkeit nur für eine gewisse Zeit paralysiert als gar ihr Vermögen, Rezeptoren zu sezernieren, vernichtet. Um Antikörper und Reaktionsstoffe aus den bildungsfähigen Zellen sezernieren zu lassen, bedarf es einer gewissen, mittleren Intensität der Bindungsreizung.

Im allgemeinen wird man stets im Verlaufe der typhösen Erkrankung die spezifische Reaktion vorfinden; nur das nicht so seltene späte Auftreten der Agglutination hat den Wert dieser Probe für den Kliniker herabgesetzt. In der zweiten Woche oder schon am Ende der ersten Woche pflegt jedoch allermeist die Prüfung des Serums auf Agglutinationsfähigkeit positiv auszufallen. Aehnliche Verhältnisse beobachtete ich bei der Dysenterie, wo ich die Angaben früherer Autoren, daß die Agglutination sehr selten vor dem 7. Tage auftritt, bestätigen konnte. Um diese Zeit sind jedoch schon andere klinische Symptome in Erscheinung, so daß der positive Ausfall der Gruber-Widalschen Probe nur als ein wertvolles Bestätigungssymptom zum Krankheitsbilde hinzutritt. In dem frühen Auftreten (1. Woche) der Reaktion bei höheren Verdünnungsgraden des Serums oder der Bouillonkultur aber können wir, da sie spezifischer Natur ist, die Diagnose Typhus abdominalis mit absoluter Sicherheit stellen, ohne daß wir weiter auf andere klinische Symptome größeren Wert zu legen brauchen. Die Gruber-Widalsche Reaktion ist in solchen Fällen mehr wie ein bloßes Symptom. Der spezifische Charakter der Agglutinine erspart uns ferner hierbei den mühsamen Nachweis der Bakterien im Stuhl. Unter den Symptomen des Unterleibstyphus muß die Reaktion den ersten Platz einnehmen; daran muß unter allen Umständen festgehalten werden. Nur bei einem Vergleich der Leukocyten- und Agglutinationsbefunde für die Frühdiagnose des Abdominaltyphus ist das Symptom der Leukopenie, wie in jüngster Zeit Kast und Gütig[3]) in ihrer wertvollen Arbeit über Hypoleukocytose bei Typhus angeben, von höherem, diagnostischem Wert.

---

[1]) **v. Leube**, Münch. med. Wochenschr. 1898. No. 8.

[2]) **Rumpf**, Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 24.

[3]) **Kast u. Gütig**, Ueber Hypoleukocytose beim Abdominaltyphus und anderen Erkrankungen. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXX. 1904. Heft 1/2.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Ein weiteres, störendes Moment für den Spezifitätscharakter der Agglutinine scheint in dem bisweilen anzutreffenden Vorkommnis zu liegen, daß frisch aus dem erkrankten Organismus gezüchtete Bakterien nicht von spezifischem Serum agglutiniert werden, während bei älteren Stämmen in hohen Verdünnungsgraden eines passenden Immunserums Agglutination eintritt. Stern[1]) teilt die interessante Beobachtung mit, daß aus dem Blute eines Typhuskranken mehrere unter sich ganz gleiche Typhuskolonieen gezüchtet wurden, von denen jedoch nur einige durch das Serum des Patienten beeinflußbar waren. Es ist nun denkbar, daß der in den Organismus eingedrungene Mikroorganismus im Körper einen Modifikationsprozeß durchmacht, der ihn in der Entwickelung seiner ihm originalen Funktion zeitweise hemmt. In solchen negativen Agglutinationsbefunden mit einem frisch gezüchteten Stamm ein Versagen der Serodiagnostik zu erkennen, erscheint aber völlig unberechtigt. Die verloren gegangene Agglutinationsfähigkeit des infizierenden, eben gezüchteten Mikroben läßt sich bequem durch Ueberimpfen auf die gewöhnlichen Nährböden wieder herstellen. P. Th. Müller[2]) konnte, nachdem von Walker[3]) ähnliche Verhältnisse beschrieben waren, experimentell feststellen, daß die Züchtung der Typhusbacillen in einer Mischung von spezifischem Immunserum und Bouillon die Entstehung einer Rasse zur Folge hatte, die sich durch weit geringere Agglutinierbarkeit gegenüber einer älteren Laboratoriumskultur auszeichnete. Wir müssen demnach hier nach Müller eine Hemmung resp. Abschwächung der Rezeptoren des Bakteriums durch den Kontakt mit den spezifischen Agglutininen, wie er auch bisweilen im Serum eines mit Typhus infizierten Kranken zum Ausdruck kommt, annehmen, ohne daß darin ein Fehler in der spezifischen Reaktion vorläge.

Verschieden von dieser Verminderung der Agglutinierbarkeit frisch gezüchteter oder im Immunserum gewachsener Typhusbakterien ist das von Bail[4]) beschriebene Phänomen der Unempfindlichkeit der ins Peritoneum eingeführten Typhusbakterien gegenüber den Agglutininen. Hier handelt es sich nicht um die Entstehung einer inagglutinablen Rasse, sondern um eine Verankerung der agglutininbindenden Rezeptoren durch Abbauprodukte der Agglutinine, die Bail als Agglutinophore bezeichnet. Auch diese Unempfindlichkeit der Bakterien gegenüber den spezifischen Agglutininen geht bei der ersten Ueberimpfung in gewöhnliche Nährböden verloren. Die Erzielung einer dauernd agglutininunempfindlichen Rasse gelang bisher, wie Kirstein[5]) ausführt, nicht; dagegen erhielt Kirstein eine über mehrere Generationen sich erstreckende Agglutininresistenz, doch auch nur bei einzelnen Stämmen. „Es ist demnach nur die labile, agglutinophore Gruppe des Agglutininmoleküls in Verlust gekommen und dadurch der dem Auge deutliche Agglutinationsvorgang zerstört. Damit können natürlich pathogene Mikroorganismen der Diagnose durch die Agglutinationsreaktion entgehen, ohne daß dieselbe damit aufgehoben ist“ (Kirstein).

Aehnliche Verhältnisse liegen auch in dem von Falta und Nögge-

---

1) Stern, Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 30.

2) Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 2.

3) Walker, Zit. nach P. Th. Müller.

4) Bail, Versuche über Typhusagglutinine und -präzipitine. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLII. 1902.)

5) Kirstein, Ueber Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien, insbesondere von Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. Heft 2.)

rath[1]) kürzlich erwähnten Bericht vor. Diese Autoren fanden bei einer Typhusendemie im Serum der Patienten ein auffälliges Verhalten in der Agglutination mit verschiedenen Stämmen und suchten dies durch Verschiedenheiten im Rezeptorenapparat der jeweilig krankmachenden Spielarten des Bact. typhi zu erklären. Andererseits konnten sie in frischem menschlichen wie tierischen Typhusserum häufiger Proagglutinoide nachweisen, die infolge größerer Avidität zu den Rezeptoren eine Einwirkung der Agglutinine verdeckten. Wir sehen also hier wieder, daß ein Fehlen der Reaktion auch in klinisch oder bakteriologisch sichergestellten Fällen den Wert der spezifischen Bindung nicht herabsetzen kann.

Ein größerer Teil der Typhusfälle mit negativer Agglutination ist ferner auf ein Uebersehen der in letzter Zeit mehrfach zitierten Paratyphusstämme zurückzuführen, so daß man in allen typhussuspekten Fällen zur Sicherung der Diagnose nicht nur mit einer Agglutination gegenüber dem Bact. typhi, sondern auch gegenüber den beiden, bis jetzt bekannten Paratyphusstämmen zu rechnen hat.

Es wurden nun in jüngster Zeit verschiedene brauchbare Methoden zur Anstellung der Gruber-Widalschen Reaktion vorgeschlagen. So die Verwendung abgetöteter Kulturen nach dem ersten diesbezüglichen Vorschlag von Widal und Sicard[2]) [Pröscher[3]), Rolly[4]), Lion[5]]. Mit Formalin (40 Proz.) abgetötete Bouillonkulturen haben jedoch nach meinen Erfahrungen den Nachteil, daß die spezifische Reaktion nicht mehr in der Stärke der Häufchenbildung, der Schnelligkeit des Eintritts und dem Verdünnungsgrade eintritt, wie bei der Verwendung guter, lebender Laboratoriumskulturen. Am besten scheint sich nach den bisherigen Angaben das Fickersche Diagnostikum zur Anstellung der Reaktion zu eignen. Von Meyer[6]), Ehrsam[7]), Radzikowski[8]) wurden recht befriedigende Resultate über die Verwendung dieses Diagnostikums, das meines Erachtens aus mechanisch zerriebenen und zertrümmerten Bakterienleibern besteht, mitgeteilt. Schwankungen der Agglutination, durch das Alter, die Virulenz, die individuelle Agglutinationsfähigkeit des Stammes veranlaßt, scheinen hier weniger in Betracht zu kommen. Wertvoll erscheint auch der Vorschlag Faltas und Nöggeraths[9]), ein gewissermaßen „polyvalentes Diagnostikum“, aus verschiedenen Typhusstämmen bestehend, zu verwenden.

Im allgemeinen genügt jedoch die Ausführung der Reaktion mit einer gut agglutinierbaren, älteren, lebenden Kultur vollkommen, wenn auch geringere Differenzen in der Titerhöhe bei einzelnen Stämmen bisweilen zu beobachten sind. Der Wert der spezifischen Agglutinationsprobe für die Klinik besteht allerdings nicht in der Anerkennung der bloßen Agglutinierbarkeit

---

1) Falta u. Nöggerath, Zur Bedeutung der Proagglutinoide für die Gruber-Widalsche Reaktion. (Ref. a. d. 76. Vers. Dtscher Naturf. u. Aerzte.)

2) Widal u. Sicard, Etude sur le sérodiagnostic. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. No. 5.)

3) Pröscher, Zur Anstellung der Widalschen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902.)

4) Rolly, Zur Diagnose des Typhus abdominalis. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 24.)

5) Lion, Die Methoden zur Ausführung der Gruber-Widalschen Reaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 21.)

6) Meyer, J., Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 45.

7) Ehrsam, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 15.

8) Radzikowski, Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 10.

9) l. c.

durch das Serum, vielmehr liegt in der **Steigerung** der Agglutinationsfähigkeit des wirksamen Blutserums die diagnostische Bedeutung des Gruber-Widal. Die Agglutinationskraft ist eine schon natürlicherweise öfter vorhandene (wenn auch meist nur bei einer Verdünnung von 1 : 1) Qualität, die auch in nicht spezifischen Erkrankungen eine geringfügige Steigerung ihres Wertes erhalten kann.

Wir müssen uns bei der Frage der Spezifität der Agglutinationsreaktion immer bewußt bleiben, daß wir bei der Typhusinfektion, eine einwandsfreie Technik vorausgesetzt, in den allermeisten Fällen mit einer absoluten quantitativen Spezifität zu rechnen haben, daß jedoch in qualitativer Beziehung infolge des Entstehens differenter Partialagglutinine zusammen mit dem dem infizierenden Bacillus entsprechenden Hauptagglutinin in einzelnen Fällen eine nicht strenge, absolute Spezifität auch bestehen kann, die sich den Partialagglutininen gegenüber allerdings nur in niedrigen Verdünnungen geltend macht.

Der spezifische Charakter der Agglutinine kann aber am sichersten und reinsten in einem hochwertigen Immunserum erkannt werden, das für die Diagnostik des infizierenden Mikroorganismus die absoluteste Dignität besitzt. Aehnlich verhält es sich mit Rekonvaleszentenserum, das fast immer, bei richtiger Versuchsmethodik in höheren Verdünnungsgraden verwandt, die Diagnose der spezifischen Krankheit mit absoluter Sicherheit teils bestätigt, teilweise sogar allein zur Erkenntnis des Krankheitsbildes führen kann. Nur eine ganz oberflächliche Anschauung und mangelhafte Uebung könnte den spezifischen Charakter dieser Reaktionsprodukte im Serum in Abrede stellen.

Es sind jedoch in den letzten Jahren, in denen der Spezifitätscharakter der Agglutinine öfter in Zweifel gezogen wurde, verschiedene Befunde mitgeteilt, die auf Grund von experimentellen Untersuchungen diese Spezifität des Immunserums und Rekonvaleszentenserums in Mißkredit brachten. Ich will mich hier nur auf wenige Zitate beschränken, indem ich die Ergebnisse und Ansichten einiger Untersucher über die Differenzierung einzelner Agglutinine in Immunseris anführe. So berichten Arloing und Courmont[1]) über die Eigenschaft von Typhusimmunseris, häufiger außer dem Eberthschen Bacillus auch den Kochschen Bacillus zu agglutinieren. Beide Autoren kommen hierbei zu dem richtigen Schluß, daß man die Erklärung dieser zweifach wirksamen Agglutinationsfähigkeit nicht in einer Identifizierung der beiden Agglutinine oder in einer einander parallelen Entwickelung zu suchen habe. Nach ihren Tierversuchen ist es nicht dieselbe Substanz, die im Serum der Typhuskranken den Kochschen wie den Eberthschen Bacillus zur Agglutination bringt. Im Gegensatz zu Beobachtungen von Schottmüller[2]), Kurth[3]), de Feyfer und Kayser[4]) fand Jürgens[5]) wie Conradi und v. Drigalski[5]) in Fällen von Paratyphusinfektion einen positiven Widal in höheren Verdünnungen auch für den Typhusbacillus und umgekehrt in einer Typhusendemie in vielen Fällen auch eine Mitagglutination der Typhoidbacillen. **Jürgens** kommt daher zu dem Schluß, daß nicht allein das Agglutinationsphänomen zur Klärung der Aetiologie verhelfen könne, sondern, wie unbedingt zugegeben werden muß, in erster Linie die bakteriologische Untersuchung der Faeces. Auch Immunisierungen von Ziegen und Kaninchen bewiesen nach vorstehendem Autor keine streng spezifische Beeinflussung der zur Infektion verwandten Bakterien, indem bei Typhusinfizierung z. B. auch die Typhoidbakterien mitagglutiniert wurden. Analoge Untersuchungen liegen bezüglich einer Mitagglutination von Coli-Bacillen durch Typhusimmunserum und umgekehrt vor; jedoch scheint hier nur eine unbedeutendere Beeinflussung der nicht zur Immunisierung verwendeten Bakterienart vorzukommen [Kühnau[1]), Jatta[2]), Pfaundler[3]), Stern[4]), Biberstein[5]), Fodor und Riegler[6]), Castellani[7])]. Für eine Ableugnung der Spezifität der Agglutinationsreaktion können diese nur zum kleineren Teil abweichenden Befunde nicht verwertet werden, denn es kann, wie schon ausgeführt, neben dem spezifischen Agglutinin sehr wohl noch, der differenten Zusammensetzung des zur Immunisierung verwandten Bakterium entsprechend, eine Mitagglutination anderer Arten durch Partialagglutinine eintreten. Außerdem muß stets eine Mischinfektion mit anderen Arten, speziell mit Paratyphusbakterien, worüber in einigen Arbeiten berichtet wurde, ausgeschlossen werden. Bei einer derartigen Bakterienassociation werden natürlich differente Rezeptoren ins Serum abgestoßen und können die diagnostische Erkenntnis stark beeinflussen. Wie nun aber die bakteriziden Schutzkörper bei der Tätigkeit eines zweiten oder mehrerer Organismen im Körper eine Herabsetzung ihrer Wirksamkeit erfahren, können auch die Agglutinine in ihrer Entstehung und Wirkungsweise sich gegenseitig beeinflussen. So wird man hierbei geringere Titrewerte und besonders gleichmäßigere Agglutinationswerte (was bei der bloßen Mitagglutination nicht der Fall ist) der einzelnen Stämme finden. Weiter müssen wir in gewissen Grenzen sich bewegende individuelle Schwankungen bei der Bildung und Entwickelung der einzelnen Agglutinintypen annehmen, die von mehr oder weniger stark ausgeprägten Komponenten des Bakterienleibes sowie von der Reaktionsfähigkeit, d. h. der Affinität der agglutininproduzierenden Zellen, abhängen.

---

[1] Arloing und Courmont, Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. 1904. Heft 3/4.
[2] Schottmüller, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 32.
[3] Kurth, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 30.
[4] de Feyfer und Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 41/42.
[5] Conradi, v. Drigalski u. Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1902.

---

1) **Kühnau**, Berl. klin. Wochenschr. 1897.
2) **Jatta**, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIII. 1900.
3) **Pfaundler**, Münch. med. Wochenschr. 1899.
4) **Stern**, Berl. klin. Wochenschr. 1897.
5) **Biberstein**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898.
6) **Fodor und Riegler**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIII. 1898.
7) **Castellani**, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XL. 1902.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss erhöhter Temperatur auf die bakterizide Wirkung des normalen Serums.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag (Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Dr. **Yonetarō Kikuchi.**

Man hat bisher ohne besonders auf diesen Punkt gerichtete Untersuchungen gewissermaßen als selbstverständlich angenommen, daß die verschiedenen Wirkungen, die das Serum auf Bakterien ausübt, ihr Temperaturoptimum ungefähr bei der Bluttemperatur haben, während es feststand, daß unterhalb derselben ein weit langsamerer Verlauf konstatiert wurde. Die Annahme war ganz natürlich, sobald man den bakteriziden, agglutinierenden und präzipitierenden Eigenschaften des Serums eine wesentliche Bedeutung für den Tierkörper zuschrieb und die Ergebnisse des Reagenzglasversuches auf die Verhältnisse im lebenden Organismus übertrug.

Nun hat aber Weil[1]) für die Bakterienagglutination festgestellt, daß ihr Optimum weit höher als die jemals mögliche Körpertemperatur, bei etwa 50—55° C liegt.

Man braucht nur einen Versuch anzustellen, um sich zu überzeugen, wie unvergleichlich schneller und vollständiger der Verlauf der Agglutination bei 50° C im Vergleich zu dem bei 37° C erfolgt.

Was die bakterizide Seite der Serumwirkung betrifft, so wurden fast alle Versuche bisher bei 37° C angestellt. Nur ab und zu und zu ganz besonderen Zwecken arbeitete man auch bei höherer Temperatur. So ließ Buchner[2]) in Anlehnung an Versuche von Pekelharing Serum auf Bakteriensporen bei 42° C einwirken, nur zu dem Zwecke, um die Auskeimung der Sporen zu verhindern.

Es erfolgt Serumbakterizidie auch bei dieser Temperatur.

Die Feststellung eines höheren Temperaturoptimums für die Bakterienabtötung als es die Körpertemperatur ist, hat ein ganz besonderes Interesse. Denn auf den ersten Blick erscheint die bakterizide Kraft des Blutes als eine so überaus zweckmäßige Einrichtung, daß man trotz vereinzelter Widersprüche kein Bedenken getragen hat, sie als das wichtigste, wenn nicht einzige Schutzmittel des Organismus gegen Bakterien zu betrachten. Von dieser scheinbaren Zweckmäßigkeit geht viel verloren, sobald sich zeigen läßt, daß der Vorgang der Keimvernichtung am besten erfolgt, wenn er unter Bedingungen verläuft, die im lebenden Tierkörper gar nicht vorhanden sind.

Temperaturen von 44 und 45° C, die in den folgenden Versuchen angewendet wurden, erreicht der Kaninchenkörper wohl niemals. Dabei wird ganz abgesehen davon, daß im Organismus ja kein Serum, sondern nur Blut vorhanden ist. Wenn man aber die Ergebnisse der Reagenzglasversuche auf den Tierkörper überträgt, so ist zu berücksichtigen, daß bei 45° C schon eine sehr beträchtliche Lösung von roten Blutkörperchen erfolgt, die ihrerseits wieder nach Buchners[3]) Ermittelung die Bakterizidie herabsetzt.

---

1) Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. No. 5. Bd. XXXVII. No. 1.

2) Buchner, Archiv für Hygiene. Bd. XVII. p. 115.

3) Buchner, Archiv für Hygiene. Bd. X.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

In jüngster Zeit, als die nachstehenden Versuche bereits dem Abschluß nahe waren, teilten Detre und Sellei[1]) mit, daß auch für Hämolyse das Optimum höher als bei 37° C liege. In einer kurzen Bemerkung weisen sie, ohne eigene Versuche mitzuteilen, darauf hin, daß dasselbe auch für die Bakteriolyse gelte.

Die Temperatur von 44 und 45° C wurde in den folgenden Versuchen gewählt, um den später zu besprechenden Einwand, daß hohe Temperaturen an sich schon Bakterien schädigen, von Anfang an zu berücksichtigen. Gearbeitet wurde hauptsächlich mit Kaninchenserum und den für bakteriolytische Versuche besonders geeigneten Typhusbacillen und Choleravibrionen.

Tabelle I.

Schafserum. Die Proben standen in Wasserbädern, die durch Thermoregulator (Ostwaldsches Wasserbad) genau auf 37 und 44° C gehalten waren.
Zur Einsaat dient 12-stündige Bouillonkultur von Typhusbacillen.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach $1^1/_2$ Std.	nach $4^1/_2$ Std.
1) 2 ccm aktives Serum	44°	∞	33	0	0
2) 2 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		3136	152	0
4) wie 2			∞	∞	∞

Tabelle II.

Schafserum. Anordnung wie in Tab. I.
Einsaat von 12 Std. alter, gut durchgeschüttelter Cholerabouillonkultur.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 4 Std.
1) 2 ccm aktives Serum	44°	∞	2 720	120	0
2) 2 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		ca. 20 000	3200	0
4) wie 2			∞	∞	∞

Tabelle III.

Kaninchenserum. Die Proben standen im Wasserbad von 37 und 45° C.
Bouillonkultur von Typhusbacillen.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 4 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	∞	1824	1000	0
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		5440	2170	640
4) wie 2			∞	∞	∞

Tabelle IV.

Dasselbe Serum wie in Tab. III. Gleiche Anordnung mit Staphylococcus.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	ca. 15000	9 600	4 800	2 240
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			ca. 10 000	ca. 10 000	5 440
3) wie 1	37°		ca. 20 000	4 480	3 520
4) wie 2			ca. 20 000	ca. 10 000	ca. 10 000

Tabelle V.

Kaninchenserum. Gleiche Anordnung mit Staphylococcus.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	7000	3040	168	6
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			4640	1280	384
3) wie 1	37°		1440	704	296
4) wie 2			4400	1952	1248

---

1) Detre und Sellei, Wiener klin. Wochenschrift. 1904. No. 45.

Tabelle VI.

Dasselbe Serum und dieselbe Anordnung wie Tab. V.
Einsaat von Cholerabouillonkultur.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	∞	2080	320	16
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		3680	1408	672
4) wie 2			∞	∞	∞

Tabelle VII.

Kaninchenserum. Dieselbe Anordnung wie Tab. VI.
Bouillonkultur von Typhusbacillen.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	∞	5760	1568	448
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		ca. 10000	ca. 10000	2160
4) wie 2			∞	∞	∞

Tabelle VIII.

Dasselbe Serum und dieselbe Anordnung wie Tab. VII.
Cholerabouillonkultur.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	45°	∞	1152	1920	1780
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		ca. 10000	ca. 10000	ca. 10000
4) wie 2			∞	∞	∞

Aus den mitgeteilten Versuchen geht ohne weiteres die stärkere und schnellere Bakterizidie bei 44 und 45° C hervor. Schwankungen in einzelnen finden dabei wie bei jeder größeren bakteriziden Versuchsreihe statt und hängen offenbar mit der schwankenden, absoluten, keimtötenden Kraft der Normalsera zusammen.

Es ist nur noch des obenerwähnten Einwandes zu gedenken. Daß eine Temperatur von 44° Bakterien schädigt, läßt sich annehmen, auch wenn das in der Platte nicht deutlich zum Ausdruck kommt, wie es hier in der Mehrzahl der Fälle zutraf. Es ist sofort zuzugeben, daß Bakterien, die gleichzeitig zwei verschiedenen Schädigungen ausgesetzt sind, der hohen Temperatur einerseits, der Serumbakterizidie andererseits, schneller verschwinden werden, als wenn nur eine einzige wirken würde. Es wurde dieser Einwand zunächst so zu vermeiden gesucht, daß die zur Einsaat in die Proben bestimmten Bakterien 2—3 Stunden vorher bei 44° gehalten wurden, ohne daß dies etwas am bisherigen Resultate änderte. Doch wäre auch damit der erwähnte Einwand nicht vollständig beseitigt. Dies muß aber der Fall sein, wenn sich zeigen läßt, daß dort, wo bei 37° infolge des Fehlens oder mangelhafter Ausbildung der bakteriziden Kraft (Fehlen von Immunkörpern oder Komplement oder beider) keine Keimtötung stattfindet, eine solche auch bei 45° unterbleibt. Etwas Derartiges zeigt sich bereits bei den Staphylokokkenversuchen in Kaninchenserum. Bekanntlich ist der Staphylococcus in diesem Serum sehr widerstandsfähig und wird nur verhältnismäßig wenig geschädigt. Tatsächlich kann hieran auch die höhere Temperatur nicht viel ändern und bisweilen fehlte bei großen Aussaaten, sowohl bei 37° wie bei 44°, jede Bakterizidie oder kam nur angedeutet zum Ausdruck.

Tabelle IX.

Kaninchenserum. Reichliche Einsaat von Staphylokokkenbouillonkultur.

		Einsaat	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 5 Std.
1) 1 ccm aktives Serum	44°	∞	vermindert	∞	∞
2) 1 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			∞	∞	∞
3) wie 1	37°		∞	∞	∞
4) wie 2			∞	∞	∞

Noch klarer läßt sich dieser wichtige Befund bei Verwendung von Milzbrand und Schafserum erheben, welch letzteres nach den Untersuchungen von Bail und Pettersson niemals Komplement und oft auch keinen Immunkörper zur Milzbrandabtötung besitzt.

Tabelle X.

Schafserum. Dieselbe Versuchsanordnung wie vorher.
Einsaat von 12 Std. alter, gut durchgeschüttelter Milzbrandbouillonkultur.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach $1^1/_2$ Std.	nach $4^1/_2$ Std.
1) 2 ccm aktives Serum	44°	5760	3840	2560	2800
2) 2 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			7360	3520	3840
3) wie 1	37°		7360	3500	ca. 15000
4) wie 2			6400	3840	ca. 20000

Tabelle XI.

Dasselbe Serum und dieselbe Anordnung wie Tab. X.
Einsaat von Milzbrandbacillen.

		Einsaat	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 4 Std.
1) 2 ccm aktives Serum	44°	764	576	704	384
2) 2 „ Serum, $^1/_2$ Std. auf 60°			800	960	1600
3) wie 1	37°		576	860	2200
4) wie 2			1120	1024	4160

Eine Vermehrung der Milzbrandbacillen konnte natürlich bei 44° nicht mehr erfolgen, aber auch von Bakterizidie ist nichts Deutliches zu sehen. Es beruht also tatsächlich die bessere Wirkung des Serums nur auf einer Begünstigung der bakteriziden Eigenschaften, der Bakteriolysine, und sie wird nicht durch eine Bakterienschädigung infolge der höheren Temperatur vorgetäuscht.

Prag, 1. Dezember 1904.

Nachdruck verboten.

Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von **Julius Kerner**, cand. med.

Zu denjenigen Fragen, welche dank der neueren Forschungen auf dem Gebiete der Immunität in ein neues Licht gebracht wurden, gehört die wichtige Frage der Identifizierung bezw. Trennung von pathogenen Mikroorganismen. Währenddem früher die kulturellen Merkmale allein ausschlaggebend waren, ist es heutzutage nicht mehr statthaft, auf Grund der kulturellen Untersuchungen Mikroorganismen zu trennen oder zu identifizieren. Es ist vielmehr erforderlich, auch die Immunitätsreaktion zu berücksichtigen. Die grundlegenden Arbeiten von Pfeiffer über die Typhus- und Cholerafrage haben den ersten Anstoß gegeben zu dieser neuen Phase im Studium der Krankheitserreger. Zu denjenigen Mikroorganismen, welche in dieser Hinsicht noch nicht genügend untersucht sind, gehört der Streptococcus pyogenes. Ist es möglich, pathogene und nichtpathogene Streptokokken zu unterscheiden? Giebt es mehrere Arten des Streptococcus pyogenes? Diese Fragen sind noch nicht endgültig beantwortet worden. Ich will hier nur anführen, daß die verschiedenen Forscher auf dem Gebiete der Streptokokkenfrage, wie Marmorek, Besredka, Aronson, Moser, Mayer, Schottmüller u. a. nicht zu übereinstimmenden Resultaten gekommen sind.

Auf Anregung von Herrn Dr. Silberschmidt habe ich es daher übernommen, das Verhalten verschiedener Streptokokken in Bezug auf hämolytische und auf agglutinierende Eigenschaften zu untersuchen und will die erhaltenen Resultate hier in Kürze mitteilen.

A. Hämolyse der Streptokokken.

Die erste Aufgabe, die ich mir bei Beginn der diesbezüglichen Untersuchungen gestellt habe, war, mich zu überzeugen, daß die zu untersuchenden Streptokokken wirklich hämolytische Eigenschaften besitzen, wie es von vielen Autoren für Streptokokken-, Staphylokokken-, Tetanus-, Typhus-, Pyocyaneus- und Coli-Stämme beschrieben worden ist. Der erste orientierende Versuch bestand darin, daß zu der gewöhnlichen, schwach alkalischen Bouillon steriles defibriniertes Kaninchenblut zugefügt, Streptokokken von verschiedener Herkunft reichlich geimpft, und das Ganze in den Brutschrank eingestellt wurde. Nach 24 Stunden zeigte es sich, daß das Blut in vielen Röhrchen deutlich aufgelöst worden war. Die Methode, die ich für den ersten Orientierungsversuch verwendet habe, ist schon längst bekannt und ist vor kurzer Zeit eingehend von Riecke beschrieben worden. Es werden Bouillonröhrchen verwendet, der betreffende Streptococcus geimpft, wenige Tropfen steriles defibriniertes Blut hinzugefügt, und die Röhrchen in den Brutschrank eingestellt. Nach 1—2 Stunden sind die Blutkörperchen am Boden des Röhrchens, nach ungefähr 6—8 Stunden beginnt die Hämolyse, indem der unterste Teil der Bouillon eine mehr oder weniger ausgeprägte Burgunderrotfarbe annimmt, welche allmählich auch in den oberen Schichten der Flüssigkeit sichtbar wird. Nach 24 Stunden werden die Röhrchen geschüttelt, und dann ist die Bouillon diffus lackfarben. Nach 3—4 Tagen wandelt sich häufig die Farbe in eine braunrote um, nach 6—7 Tagen tritt eine Aenderung der Farbe nicht mehr ein. Zu den eigenen Versuchen wurde diese Methode angewandt, mit dem Unterschiede, daß das Schütteln der Bouillonröhrchen vermieden wurde, da die Höhe der burgunderrot gefärbten Säule als gutes Kriterium für die Bestimmung der Intensität des hämolytischen Prozesses dienen konnte, vorausgesetzt, daß die Zusammensetzung und die Menge der Bouillon bei allen analog angestellten Versuchen immer konstant bleibt. Ich verwendete gewöhnliche, schwach alkalische Fleischwasserpeptonbouillon in der Menge von je 10,0 ccm. Für die vorliegenden Untersuchungen benützte ich meistens Kaninchenblut, daneben Menschen-, Meerschweinchen-, Hunde-, Ochsen- und Froschblut. Das Blut wurde defibriniert und tüchtig mit physiologischer 0,8-proz. Kochsalzlösung ausgewaschen, um die eventuelle Wirkung des Blutserums auf das Wachstum der Streptokokken einerseits und auf die roten Blutkörperchen andererseits auszuschließen. Die Autolyse der roten Blutkörperchen im homogenen Serum war besonders stark für Menschen- und Hundeblut ausgeprägt, am wenigsten für Kaninchenblut. Nach der wiederholten Auswaschung mit 0,8-proz. NaCl-Lösung blieb das Blut im Eisschranke 1—2 Wochen unverändert. Bei jeder Prüfung der Hämolyse wurde ein Kontrollversuch angestellt, indem zu der Bouillon dieselbe Blutart zugefügt wurde, aber keine Streptokokken. Trat die Hämolyse im Kontrollröhrchen ein, so schloß ich den betreffenden Versuch aus. Von den 16 untersuchten Streptokokkenstämmen wurden 2 tierpathogene Stämme B und P vor 5—6 Jahren aus dem Paltaufschen Institut in Wien bezogen und seitdem sehr häufig weiter geimpft und durch Tierpassage virulent erhalten; ein tierpathogener Stamm M wurde aus einem Falle von Mastitis beim Menschen isoliert und ebenfalls einige Jahre lang weiter gezüchtet; die übrigen Streptokokken wurden alle von Krankheitsfällen des Menschen gewonnen, mit Ausnahme der Stämme Rach I. und Rach. II, welche ich aus dem normalen Rachen isoliert hatte.

Es wurde zunächst die hämolytische Wirkung von Streptokokken verschiedener Herkunft in vitro geprüft. Schon 1895 äußerte sich Marmorek dahin, daß bei der Hämolyse der Streptokokken in vitro es sich nur um leichte Abweichungen je nach der Art der Abstammung handelt, wobei die Abweichungen nur im Uebergange von einer Form zur anderen bestehen. Schottmüller nimmt an, daß alle Streptokokken unter gewissen Bedingungen eine hämolytische Eigenschaft zeigen können, nur in verschiedener Intensität und unter verschiedenen Farbnuancen, was auch Riecke auf Grund seiner spektroskopischen Untersuchungen in neuerer Zeit bestätigt hat. Entgegengesetzte Behauptungen fand ich in den Arbeiten von Besredka, Schlesinger, v. Lingelsheim, Lubenau u. a. Diese Autoren schreiben das hämolytische Vermögen nur den Streptokokkenstämmen zu, die sich als für Tiere pathogen erweisen. In der folgenden Tabelle No. 1 wird die Intensität der Hämolyse verschiedener Streptokokkenstämme angegeben nach den mit der oben beschriebenen Methode erhaltenen Resultaten. Hier ist zu bemerken, daß in allen meinen Untersuchungen die Höhe der burgunderrot verfärbten Säule auffallend genau mit der Intensität der Lackfarbe übereinstimmte. Eine Ausnahme machte nur das Menschenblut, dessen Farbnuancen ohne nachweisbare Ursachen sich hie und da änderten.

Das Alter der für diesen Versuch verwendeten Kulturen war annähernd das gleiche (s. Tabelle 1).

Diese mehrmals wiederholten Versuche ergaben, daß ein und derselbe Streptococcus auf Blutkörperchen verschiedener Tierarten verschieden wirken kann. Am stärksten war nämlich die Hämolyse mit Hundeblut, am schwächsten mit Menschen- und Froschblut. Es muß hier hervorgehoben werden, daß die Resultate für eine Blutart und für ein und denselben Streptococcus-Stamm ziemlich konstant blieben.

Ferner geht es aus der Tabelle No. 1 hervor, daß die hämolytische Wirkung der einzelnen Streptokokken gegenüber den geprüften Blutarten äußerst verschieden war. Einige Stämme hämolysierten sehr intensiv, andere gar nicht. 3 für Tiere hochpathogene Stämme B, P und M wirkten alle energisch und konstant hämolytisch. Die burgunderrote Verfärbung der Bouillon war sehr stark ausgeprägt. Von den 7 für Versuchstiere nichtpathogenen Stämmen hämolysierten mit einer gewissen Konstanz nur die 2 Scharlachstämme, die anderen 5 nicht. 5 Stämme, welche von verschieden schweren Krankheitsfällen des Menschen gewonnen worden waren, deren Tierpathogenität aber nicht genau geprüft wurde, hämolysierten verschieden stark. Von den 16 untersuchten Stämmen zeigten sich somit 11 als deutlich hämolysierend, 5 als nicht hämolysierend. Die mehrmals wiederholten Versuche fielen stets übereinstimmend aus.

Tabelle No. 1.

Hämolyse der Streptokokken.

Bezeichnung des Stammes	Herkunft	Pathogenität für Versuchstiere	Kaninchenblut	Menschenblut	Hundeblut	Meerschweinchenblut	Ochsenblut	Froschblut
B	? (Wien)	hoch pathogen	+	+	#	+	+	⋘
P	? (Wien)	hoch pathogen	‖	‖	+	‖	‖	⋘
M	Mastitis	hoch pathogen	‖	‖	+	‖	‖	⋘
Phl.	Phlegmone	pathogen	⋘	<	‖	⋘	⋘	<
A	Septische Endocarditis		⋘	⋘	‖	⋘	⋘	
Sch. I	Scharlachblut	nicht pathogen	⋘	⋘			0	
Sch. II	Scharlachabsceß	nicht pathogen	⋘	<	⋘	<		
Jon.	Miliartuberkulose		‖	0		0		
W	Strumitis		<					
Me.	Ohreiter		<					
Er.	Erysipelas		<	0	⋘	0		
C	Cholecystitis	nicht pathogen	0	0	0			
K	Septische Endocarditis	nicht pathogen	0	0	0	0		0
In.	Intestinalis	nicht pathogen	0	0	0			
Rach. I	norm. Rachen	nicht pathogen	0	0	0			
Rach. II	norm. Rachen	nicht pathogen	0	0	0			

Erklärung der Zeichen, die für alle Tabellen benützt werden:

#	**vollständige Hämolyse.** Burgunderrote Färbung des ganzen Bouillonröhrchens
+	**fast vollständige Hämolyse.** Das Röhrchen ist bis zu $^2/_3$ burgunderrot gefärbt.
‖	**sehr deutliche Hämolyse.** Das Röhrchen ist bis zur Hälfte burgunderrot gefärbt.
⋘	**deutliche Hämolyse.** Das Röhrchen ist $^1/_2$—1 cm hoch burgunderrot gefärbt.
<	**kaum angedeutete Hämolyse.** Die Bouillon zeigt oberhalb des Bodensatzes leichte burgunderrot verfärbte Wolken.
0	**keine Hämolyse.**

Neben den Versuchen mit gewöhnlicher $^1/_2$ Proz. NaCl haltiger Bouillon stellte ich gleichzeitig Versuche an, mit Kulturen in Bouillon, welche 2 Proz. NaCl enthielt, um den Einfluß des Kochsalzgehaltes auf die Hämolyse zu prüfen. Die Resultate dieser Untersuchung sind auf der Tabelle No. 2 angegeben.

Tabelle No. 2.

Hämolyse der Streptokokken in Bouillon mit 0,5 und mit 2 Proz. Kochsalz.

Bezeichnung des Stammes	Hundeblut		Kaninchenblut		Meerschweinchenblut	
	Gewönnl. Bouillon	Bouillon mit 2 Proz. NaCl	Gewöhnl. Bouillon	Bouillon mit 2 Proz. NaCl	Gewöhnl. Bouillon	Bouillon mit 2 Proz. NaCl
B	#	‖	+	0	+	0
P	+	⋘	‖	0	‖	0
M	+	0	‖	0		
Phl.	‖	0	⋘	<	⋘	<
Sch. II	⋘	<	⋘	0	<	0
Er.	⋘	0	<	0	0	0
Rach. I	0	0	0	0		
K	0	0	0	0		
A	‖	<	⋘	0		
Jon.	0	0	‖	0	0	0

Das Ergebnis des hier aufgeführten Versuches lautet somit in der Weise, daß der Zusatz von 2 Proz. NaCl zur Bouillon die Hämolyse beträchtlich abschwächt. Auf die Wachstumshemmung konnte ich den Unterschied in der Stärke der Hämolyse nicht zurückführen, weil die makroskopische und mikroskopische Untersuchung eine sehr deutliche Vermehrung der Streptokokken ergab.

Um die Frage zu prüfen, in welcher Weise sich die Hämolysinbildung ändert infolge der Passage durch den Tierkörper und nach der Ueberimpfung auf künstliche Nährböden, wurden Versuche mit dem tierpathogenen Streptococcus M (Mastitis) angestellt. Von verschiedenen Autoren ist die Hämolyse als Masstab für die Pathogenität der Streptokokken angegeben worden. Auch meine Versuche scheinen für diese Annahme zu sprechen, da diejenigen Kulturen, welche am virulentesten für Kaninchen waren, auch am stärksten hämolytisch wirkten. **Schlesinger**, **Besredka**, **Marmorek** haben schon die Steigerung der Hämolyse in vivo im Laufe der Tierpassagen konstatiert. Um dieselbe Frage für die Hämolyse in vitro zu beantworten, habe ich Versuche mit dem hochpathogenen Stamm M vorgenommen; die Steigerung der Virulenz eines avirulenten und nicht hämolysierenden Streptococcus mittels Tierpassage ist mir nicht gelungen. Die Virulenz der nichtpathogenen Stämme K, Rach. I und Rach. II wurde durch einige Injektionen auf Mäuse und auf Kaninchen nicht erhöht. Die Versuche mit Streptococcus M wurden in folgender Weise angestellt. Es wurde ein Kaninchen No. 1 mit einer lebenden 24-stündigen Bouillonkultur von Streptococcus M subkutan geimpft (0,25 ccm). Das Tier starb nach 19 Stunden. Herzblut deutlich lackiert. Direkt mit dem Herzblut No. 1 wurde ein anderes Kaninchen subkutan geimpft (0,25 ccm). Tod nach 12 Stunden, Herzblut hochgradig lackiert. Mit dem Herzblute beider Tiere wurden Kulturen angelegt, und diese täglich wieder auf künstliche Nährböden überimpft. Jede Kultur kam nach 24-stündigem Aufenthalt bei 37 ° C in den Eisschrank. Am Ende der ersten Woche wurde die Prüfung der Hämolyse in Kulturen von verschiedenen Generationen vorgenommen.

Tabelle No. 3.
Hämolyse der Streptokokken in Kulturen verschiedener Generation.

Ausgangsmaterial	Kaninchenblut	Bemerkungen
Stammkultur (3 Monate alt)	‖	
Herzblut No. 1	#	Sehr deutliche Hämolyse schon nach 2 Stunden
1. Generation (Agarkultur)	‖	
2. Generation (Agarkulter)	‖	
3. Generation (Agarkultur)	‖	
4. Generation (Agarkultur)	‖	
Herzblut No. 2	#	Sehr deutliche Hämolyse schon nach 2 Stunden
1. Generation (Zuckeragarkultur)	‖	
1. Generation (Zuckerbouillonkultur)	<	
2. Generation (Zuckeragarkultur)	‖	
2. Generation (Zuckerbouillonkultur)	<	
3. Generation (Zuckeragarkultur)	‖	
3. Generation (Zuckerbouillonkultur)	<	

Die drei Versuchsreihen lieferten übereinstimmende Resultate: Der direkt aus dem Tierkörper stammende *Streptococcus* wirkte besonders stark hämolytisch, womit *die bedeutende Zunahme des hämolytischen Vermögens nach der Tierpassage in vitro* konstatiert wurde; nach einmaliger Ueberimpfung des *Streptococcus* auf künstliche Nährböden wurde das erhaltene Vermögen bis zum ursprünglichen Grade der Stammkultur herabgesetzt; die mehrfache Passage durch künstliche Nährböden hat aber keine weitere Herabsetzung der Hämolyse zur Folge gehabt. Passage durch Zuckerbouillon scheint besonders stark herabsetzend auf die Hämolysinbildung zu wirken.

Im ferneren wurde geprüft, *wie lange verschieden alte, bei Zimmertemperatur aufbewahrte Bouillonkulturen von Streptokokken hämolytisch wirken.* Hier war ich genötigt, diese Methode etwas umzuändern, ähnlich, wie dieselbe von *Neisser* und *Wechsberg* bei Prüfung der Staphylokokkenhämolyse, von *Schlesinger* für die Untersuchung der Hämolysinbildung der Streptokokken angewandt worden ist. Im Laufe eines Monats legte ich jeden Tag eine Kultur in gewöhnlicher Bouillon an, stellte dieselbe auf 24 Stunden in den Brutschrank, dann bewahrte ich sie im Dunkeln bei Zimmertemperatur auf bis zu dem Momente der Verwendung für die Prüfung der Hämolyse. Es wurden dann in einer Reihe diesen Bouillonkulturröhrchen je 3 Tropfen defibriniertes, ausgewaschenes Kaninchenblut zugefügt und nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank in den Eisschrank gestellt. Die Hämolyse tritt dann nach 1—3 Tagen ein, selten nach 5 Tagen, später aber nicht mehr, im Gegensatz zu dem Befunde mit Staphylokokken. In der folgenden Tabelle sind die erhaltenen Resultate zusammengestellt.

Tabelle No. 4.

Hämolyse mit verschieden lang bei Zimmertemperatur aufbewahrten Bouillonkulturen von Streptokokken.

Alter der Bouillonkulturen	Str. B.			Str. P.			Str. A.			Str. K.	Str. Rach. I
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 5 Tg.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 5 Tg.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 5 Tg.	nach 5 Tg.	nach 5 Tg.
1 Tag	‖	+	+	‖	‖	‖	‖	‖	‖	0	0
3 Tage	‖	+	+	‖	‖	‖	⋘	⋘	⋘	0	0
5 „	‖	+	+	‖	‖	‖	0	0	<	0	0
7 „	‖	+	+	‖	‖	‖	<	<	⋘	0	0
8 „	⋘	‖	+	⋘	⋘	‖	0	0	<	0	0
10 „	⋘	‖	+	⋘	⋘	‖	0	0	0		
14 „	⋘	‖	+	0	0	‖	0	0	0		
15 „	⋘	‖	+	0	0	‖	0	0	0		
16 „	<	‖	+	0	0	‖	0	0	0		
17 „	<	<	‖	0	0	<	0	0	0		
23 „	0	<	⋘								
24 „	0	<	⋘								
28 „	0	0	<								
2½ Mon.	0	0	0								

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, bleibt der Hämolysingehalt der pathogenen Stämme in Bouillonkulturen in den ersten 7—14 Tagen ziemlich konstant, dann scheint er allmählich abzunehmen, wobei nach ungefähr 28 Tagen nur leichte Hämolyse, und zwar sehr träge, eintritt; beide für Tiere nichtpathogene Stämme wirkten auch in ihren alten Kulturen nicht hämolytisch.

Weitere Versuche betrafen die Frage der Widerstandsfähigkeit der Streptokokkenhämolysine gegen Erhitzung. Für jede Versuchsreihe wurde dieselbe Bouillonkultur aus einem Kolben benutzt, um jeglichen Fehler auszuschalten. Auch diese Versuche wurden vielfach wiederholt, und zwar mit übereinstimmenden Resultaten.

Tabelle No. 5.

Hämolyse mit erwärmten Kulturen von Streptokokken.

Angewandte Temperatur	Herzblut No. 2 „M“			Str. B.	Hämolytische Filtrate
	Kaninchenblut	Meerschweinchenblut	Ochsenblut	Hundeblut	Kaninchenblut
nicht erhitzt	#	#	#	#	‖
15 Minuten lang auf 55° C	⋘	0	0	⋘	0
30 „ „ „ 55° „	0	0	0	0	0
1 Stunde lang auf 55° C	0	0	0	0	
15 Minuten lang auf 65° C	0	0	0	0	
30 „ „ „ 65° „	0	0	0	0	
10 „ „ „ 72° „	0	0	0	0	
15 „ „ „ 72° „	0	0	0	0	
30 „ „ „ 72° „	0	0	0	0	
5 „ „ gekocht	0	0	0	0	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Streptokokkenhämolysine sich gegenüber Erhitzung ziemlich labil erweisen. Eine 30 Minuten lang dauernde Erwärmung auf 55° C hebt die Hämolyse vollständig auf; nach 15 Minuten auf 55° C wird die Hämolyse schon deutlich abgeschwächt. Die Staphylolysine zeigen nach Angaben der Autoren ein ähnliches Verhalten. Die hämolytischen Filtrate, von denen ich noch zu sprechen habe, haben dieselbe geringe Widerstandsfähigkeit gegenüber Erhitzung gezeigt.

Von den anderen Methoden, die ich für meine Untersuchungen verwendet habe, erwähne ich hier die Hämolyse auf dem Blutagar. Er wurden frische Agarröhrchen verflüssigt, bis auf 45° C abgekühlt, je 3—4 Tropfen defibriniertes Kaninchenblut zugefügt und rasch Platten gegossen; dann wurden oberflächliche Kulturen mit wenig Material angelegt. Nach ungefähr 18—24 Stunden merkt man um jede einzelne Kolonie herum einen kleinen (2—3 mm im Durchmesser) hellen Hof, was auf die Resorption des Hämoglobins der roten Blutkörperchen hindeutet. Die Reaktion ist sehr empfindlich und elegant, scheint aber für quantitative Bestimmungen nicht geeignet zu sein, weil der Durchmesser des Hofes neben der Intensität der Hämolyse auch von der Größe der Kolonieen abhängig zu sein scheint. Werden die Streptokokken in den flüssigen Agar geimpft, so ist die Hämolyse an den einzelnen Kolonieen nicht so leicht zu konstatieren, dagegen tritt schon nach 12—24 Stunden eine Umwandlung der hellroten Farbe des Blutagars in eine deutlich braunrote ein. Die Prüfung der Stämme mit Kaninchen-, Meerschweinchen- und Hundeblut ergab, daß bei den Stämmen, die in den Bouillonkulturen nicht hämolysierend wirkten, auch auf den Blutagar keine Beeinflussung auftrat. Hochpathogene Stämme haben die schönste Reaktion gegeben.

Weiter befaßte ich mich mit der Frage, ob die Streptokokkenhämolysine durch Bakterienfilter filtrierbar sind. Verschieden alte Bouillonkulturen von Streptokokken, welche sich als hämolytisch erwiesen hatten, wurden durch kleine Porzellanfilter filtriert und mit Blut vermengt. Eine Hämolyse in den Filtraten konnte nicht nachgewiesen werden. Nun führte ich den Versuch ungefähr in der Weise aus, wie es Besredka 1901 beschrieben hat. Es wurden folgende 4 Nährböden benutzt;

a) normales Kaninchenserum 1 Teil + Hundeblutserum 2 Teile,
b) normales Kaninchenserum 1 Teil + Ochsenblutserum 2 Teile,
c) Kaninchenimmunserum P,
d) Kaninchenimmunserum B.

Hier sei bemerkt, daß Kaninchen P und B im Laufe von 8 Monaten wiederholt mit 30 Minuten lang auf 65° C erhitzten Kulturen von den betreffenden Streptokokken immunisiert wurden. Agglutinationswertigkeit für Serum P = 1 : 25000, diejenige für Serum B = 1 : 3200.

Alle diese 4 Nährböden wurden $^1/_2$ Stunde auf 55° C erhitzt, um die bakterizide und die makrocytische Wirkung der Sera zu vermeiden. Dann wurden alle 4 Röhrchen mit Streptococcus M (Herzblut No. 2) reichlich geimpft und für Anregung der Hämolysinbildung je 2 Tropfen Blut verschiedener Art in folgender Reihe zugefügt: in Serumgemisch a — Hundeblut, in Serumgemisch b — normales Kaninchenblut, im Serum P — normales Kaninchenblut, im Serum B — Blut von demselben Tier B. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Brutschranke wurden die Röhrchen zu gleichen Teilen mit 0,8-proz. NaCl-Lösung vermengt und durch Porzellanfilter vorsichtig filtriert. Nach der Prüfung der Sterilität der Filtrate wurden ihre hämolytischen Eigenschaften in folgender Weise geprüft. Es wurden zu je 10,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung 3—4 Tropfen defibriniertes Blut und 1,0 ccm Filtrat zugegossen und in den Brutschrank gestellt. Die Hämolyse trat nach 24 Stunden ein. Nach der 15 Minuten lang dauernden Erhitzung auf 55° C trat keine Hämolyse ein. Als Kontrollversuch dienten eine Reihe von filtrierten gewöhnlichen Bouillonkulturen von verschiedenem Alter, daneben auch das filtrierte sterile Blutserum und filtrierte sterile Bouillon, wobei ich keine Spur von Hämolyse konstatieren konnte. Die Resultate sind in folgender Tabelle No. 6 veranschaulicht.

Tabelle No. 6.
Hämolyse der Filtrate von Streptokokkenkulturen im Blutserum.

Art der Kultur	Norm. Kaninchenblut	Immunblut B	Immunblut P	Hundeblut
Norm. Kaninchenserum + Hundeblutserum	‖	‖	‖	+
Norm. Kaninchenserum + Ochsenblutserum	‖	‖	‖	+
Kaninchenimmunserum P	‖	‖	‖	+
Kaninchenimmunserum B	‖	‖	‖	+

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Immunisierung des Kaninchens gegen das Bakterium der Geflügelcholera (Vaccin Lignières).

Von Dr. **Juan Carlos Delfino,**
Direktor des bakteriologischen Institutes des nationalen Gesundheitsamtes Buenos Aires.

Sehr bekannt sind die Arbeiten Pasteurs über die Abschwächung der Virulenz des Erregers der ansteckenden, Geflügelcholera genannten Krankheit und fortwährend führt man die Immunisierung der Vögel gegen diese Infektion auf als ein, man kann sagen, klassisches Beispiel der künstlichen Immunität.

Bei dem eingehenderen Studium der ansteckenden Krankheiten der Tiere wurden bekanntlich von Hueppe unter dem Namen Septicaemia haemorrhagica alle die von oviformen Bakterien verursachten Krankheiten zusammengefaßt, unter welchen die Septikämie der Hühner die erste Stelle einnimmt, indem er zeigte, daß diese Bakterien sowohl morphologisch wie biologisch eine ganze Anzahl gemeinsamer Merkmale darbieten.

Mit Hilfe der Agglutination lernte man Bakterien voneinander unterscheiden, welche früher irrtümlicherweise zu ein und derselben Art zu gehören schienen.

Zur Zeit kennen wir genau unter diesen verwandten Bakterien außer dem Bacillus ovisepticus den der Schweineseuche, den der Schweinepest, der Pasteurellosis ovis (Lignières) etc.

Unter den für diese Bakterien zugänglichen Tieren besitzt das Kaninchen eine äußerst starke Empfindlichkeit, weshalb es auch so schwer war, für dieses Tier einen schützenden Impfstoff herzustellen. Wassermann und Ostertag betonen dies auch mit Bezug auf die Schweineseuche und Kitt spricht in seiner Abhandlung über Septikämie der Vögel in dem Handbuch der pathogenen Mikroorganismen nur von der Präservation des Kaninchens gegen diesen Keim durch Anwendung des Pferdeimmunserums. Jedoch ist der hierdurch entstandene Schutz nicht absolut und vermag den Tod nur um 4—25 Tage zu verzögern.

Prof. Lignières, der Arbeiten über die hämorrhagischen Septikämieen veröffentlichte, hat im Institute von Palermo (Buenos Aires) einen Impfstoff gegen die virulente Inokulation der Hühnercholera im Kaninchen hergestellt mit einer tatsächlich immunisierenden Wirkung, welche, unseres Wissens, bis jetzt noch kein einziges Vaccin aufgewiesen hat.

Wir haben diese Ueberzeugung durch eine Reihe von Untersuchungen gewonnen, welche wir auf Veranlassung des Herrn Prof. Lignières — der uns mit der Prüfung seiner wichtigen Entdeckung beehrte — angestellt haben.

Untenstehend wollen wir die genannten Untersuchungen und ihre Ergebnisse mitteilen.

Die Schutzimpfung umfaßt 2 Inokulationen mit einer Frist von 10 Tagen zwischen der ersten und der zweiten Einspritzung. 10 Tage nach der zweiten Impfung bleibt das Tier dauernd immun.

An der Impfstelle zeigen sich einzelne lokale Reaktionen (Verhärtungen, kleine Geschwüre).

Die Menge des eingespritzten Impfstoffes braucht, wie wir sehen werden, nicht sehr groß zu sein, da eine Dosis von 1 ccm für die Immunisierung schädlich sein würde.

Versuche.

4 Kaninchen, jedes ungefähr $1^1/_2$ kg schwer, erhalten die erste Impfung, 2 injiziert man mit $^1/_2$ ccm und die beiden anderen mit 1 ccm. Nach 10 Tagen empfangen sie die zweite Impfung in derselben Quantität wie das erste Mal. 10 Tage später zeigen sich nur einfache lokale Erscheinungen, die stärker ausgeprägt sind bei den Tieren, welche jedesmal 1 ccm empfangen hatten. Nun spritzt man jedem der 4 Kaninchen 1 Tropfen einer virulenten Kultur unter die Haut ein und eine gleiche Quantität einem 5. Kaninchen (Kontrolle), das nicht vorbehandelt wurde.

Das Kontrolltier starb nach 16 Stunden. Von den 4 Geimpften starben die 2, welche jedesmal 1 ccm Vaccin empfangen hatten, 15 Stunden nach dem Kontrolltier.

Die 2, welche jedesmal $^1/_2$ ccm bekommen hatten, blieben am Leben, ohne die geringste Veränderung zu zeigen, und heute, $1^1/_2$ Monate nach dem Versuche, befinden sie sich vollkommen wohl und haben $^1/_3$ an Gewicht zugenommen.

Um festzustellen, ob die Immunisierung gegen größere Dosen virulenter Kulturen schützt, wurden 2 Kaninchen zu diesem Zwecke vacciniert. 10 Tage nach der letzten Impfung wurde einem der Tiere $^1/_4$ ccm virulenter Kultur unter die Haut gespritzt und dem anderen $^1/_2$ ccm derselben Kultur intravenös einverleibt. Beide Kaninchen sind am Leben geblieben, befinden sich in einem ausgezeichneten Gesundheitszustande und haben an Gewicht zugenommen.

Aus diesen Versuchen gehen die folgenden Schlüsse hervor:

1) Die Schutzimpfung Lignières gegen die Septikämie der Vögel im Kaninchen verleiht demselben eine kräftige Immunität, welche im stande ist, der Wirkung von verhältnismäßig enormen Quantitäten virulenter Kulturen zu widerstehen.

2) Die Quantität des Impfstoffes kann nicht willkürlich erhöht werden, da die Kaninchen, welche 2mal 1 ccm erhielten, nicht zur selben Zeit immunisiert waren wie diejenigen, welche jedesmal nur $^1/_2$ ccm Vaccin erhielten.

Nach den Untersuchungen Prof. Lignières ist dieser Impfstoff ein gegen die Hühnercholera spezifischer, d. h. er hat keine Wirkung gegen andere Pasteurellosen.

Nachdruck verboten.

On the keeping qualities of antidiphtheritic serum.

By Dr. **E. C. L. Miller,** Detroit, Mich.

It is generally understood that antidiphtheritic serum gradually loses its potency, but no very definite information seems to exist as to the rate or conditions of this deterioration. In "Medicine" for January 1902, the French Minister of the Interior is quoted as saying that "the serum (antidiphtheritic) loses none its curative qualities by being kept even for a year". In the Journal of the Royal Army Medical Corps for May 1904, is an editorial in which the results of some tests, made to determine the relative keeping qualities of diphtheria antitoxin, when kept in hospitals at home (England) and when sent in transports to India, are given. These tests show that some deterioration occurred in both instances, but not so much as to seriously impair the usefulness of the serum. A period of rather more than a year elapsed between these tests.

Because of this tendency to deteriorate, the manufacturers of antitoxin stamp each package with a date after which they offer to take it back and supply fresh serum in exchange. It occurred to me that retesting these returned serums would demonstrate the keeping qualities of antidiphtheritic serum, under the conditions met with in the ordinary drug store, better than any other means. The firm of Messrs. Parke, Davis & Co. kindly placed at my disposal a quantity of their returned serums as well as their laboratory records from which the history of each lot of serum could be traced. Most of these goods were more or less shop-worn, many bore the retailer's mark and some the druggist's name and address. As judged by these marks the goods came from all parts of the United States, and had probably been kept under all sorts of conditions — some good, some bad. A half dozen packages had evidently been exposed to considerable heat as the serum in them was firmly coagulated.

As a rule most of the returned goods come back soon after the expiration of the time limit, but for the rest there is great irregularity — some coming back before the time limit has expired, some long afterwards. Many packages were found which had been out from eighteen months to three years and a few even longer. This firm makes a practice of destroying these returned serum as fast as they come back, so the ones here reported on came back within a short time of each other most of them during June 1904. From these returned goods samples were chosen, representing lots which had been on the market for various periods of time, and their tests with the history of each lot are given in the accompanying table. The lots are arranged according to the length of time which elapsed between the regular laboratory test, before the serum was sent out, and my re-test. This time varies from seven months to more than six years.

During the spring of 1901, the method of testing the potency of antidiphtheritic serum in the laboratory was changed, the Ehrlich standard test antitoxin being substituted for the one hundred lethal doses of diphtheria toxin previously used as a standard, consequently the tests made before that time cannot be accurately compared with the

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

present tests, but from lot 2005 onward the serum was all tested according to the Ehrlich standard.

From lot 2005 onward there are in the table 82 lots of serum represented, and, of these, 25 lots or 30 % show deterioration. The original potency of the serum varied from 125 to 750 units per ccm, and the different strengths of serum showed deterioration as follows:

7 % of the lots testing 200 units per ccm showed deterioration
26 % " " " " 250 " " " " "
26 % " " " " 300 " " " " "
31 % " " " " 400 " " " " "
50 % " " " " 500 " " " " "
28 % " " " " 600 " " " " "
100 % " " " " 750 " " " " "

This would seem to indicate that the high potency serums undergo more deterioration than those of low potency.

As will be seen from the table these serums were held in the laboratory from 15 to 306 days before being sent out. It has been claimed that serums held in the laboratory for some time show less deterioration when sent out, but when the lots are rearranged according to the length of time held in the laboratory, the first 41, containing serums held from 15 to 66 days, show 14 cases of deterioration, while the second 41, containing serums held from 66 to 306 days, show 11 cases of deterioration. Emphasis should not be laid on either of these results as the intervals at which the serums are tested are too large to make them accurate. The serums are tested at 250, 300, (333), 400, 500, 600 and 750 units per ccm If a lot tests 400, but fails to test 500, it is rated as 400, whereas it may test anywhere between 400 and 500, say 475. Should this deteriorate 50 units, bringing it down to 425, it would be marked in the chart as showing no deterioration, as it still tests 400. But, had it at first only tested 425, then 50 units deterioration would have brought it to 375, and it would be marked as showing $16^{2}/_{3}$ or 25 % deterioration, depending on whether the next test was made at 333 or at 300 units. From this it will be seen that the twenty-five lots showing loss of potency are probably not the only ones which deteriorated, but rather are the ones in which the loss showed in the tests.

The most remarkable showing in the table is that from the time of the adoption of the Ehrlich Standard every one of the eighty-two packages examined contained at least as many units as were claimed for it on the label, and (as will be seen from the last columm) most of them contained from $6^{2}/_{3}$ to 25 % excess. Many of these serums had been on the market two and three years, and hence it is clearly shown that, with the excess usually allowed by manufacturers, antidiphtheritic serum retains its therapeutic activity for a much longer period than is commonly supposed.

The lessons learned from these tests may be stated as follows:

1) Antidiphtheritic serum undergoes gradual deterioration, the high potency serums changing more rapidly than the weaker serums, but in neither case is the loss of potency as rapid as is usually supposed.

2) The ordinary packages of serum, containing as they do the excess allowed by the manufacturers, retain their full therapeutic value for months or even years after their time limit, as stamped on the label, has expired.

Operation No.	Date of bleeding	Date of test	Date of issue from Laboratory	No. days held in Lab.	No. days between test and issue	No. months between tests	Original potency per ccm	Present potency per ccm	Deterioration %	Total units in original pkg.	Labeled	Total units in returned pkg.	% of label
230	Oct. 28 ’97	Nov. 10 ’97	Nov. 23 ’97	26	13	81	125	100	20	500	500	400	80
250	Nov. 9 ’97	„ 11 ’97	Dec. 9 ’97	30	28	80	166	166	0	1162	1500	1162	$77^{1}/_{2}$
252	„ 9 ’97	„ 11 ’97	Nov. 26 ’97	15	15	80	333	250	25	2331	2000	1750	$87^{1}/_{2}$
272	„ 23 ’97	„ 27 ’97	Dec. 10 ’97	18	13	80	200	100	50	1200	1000	600	60
917	May 2 ’99	May 26 ’99	Aug. 29 ’99	119	95	62	250	166	33	1750	1500	1162	$77^{1}/_{2}$
919	„ 2 ’99	June 29 ’99	„ 10 ’99	100	42	61	166	111	33	664	500	444	89
976	June 6 ’99	„ 29 ’99	Sept. 25 ’99	111	88	61	236	222	6	2124	2000	2000	100
977	„ 6 ’99	„ 29 ’99	„ 13 ’99	99	76	61	188	188	0	1128	1000	1128	113
1062	Aug. 23 ’99	Sept. 8 ’99	„ 20 ’99	28	12	58	500	400	20	1000	1000	800	80
1091	Sept. 6 ’99	„ 8 ’99	Nov. 1 ’99	56	54	58	236	125	47	2124	2000	1125	56
1095	„ 9 ’99	„ 11 ’99	Oct. 16 ’99	37	35	57	333	250	25	666	500	500	100
1431	April 18 ’00	April 20 ’00	June 27 ’00	70	68	51	200	143	$28^{1}/_{2}$	600	500	429	86
1681	Sept 28 ’00	Oct. 9 ’00	Oct. 24 ’00	26	15	45	333	300	10	2331	2000	2100	105
2005	Mar. 12 ’01	Mar. 21 ’01	May 20 ’01	69	60	39	250	250	0	1250	1000	1250	125
2029	„ 20 ’01	June 12 ’01	July 3 ’01	105	21	37	400	333	$16^{2}/_{3}$	2400	2000	2000	100
2048	„ 25 ’01	„ 26 ’01	Aug. 1 ’01	129	36	37	200	166	$16^{2}/_{3}$	1600	1000	1333	133
2213	June 12 ’01	„ 26 ’01	„ 9 ’01	58	44	37	300	300	0	1800	1500	1800	120
2057	April 1 ’01	July 17 ’01	„ 16 ’01	137	30	36	250	250	0	1250	1000	1250	125
2332	July 29 ’01	Aug. 14 ’01	Sept. 16 ’01	49	41	35	250	250	0	1250	1000	1250	125
2339	Aug. 3 ’01	„ 21 ’01	Aug. 30 ’01	27	9	35	500	400	20	2500	2000	2000	100
2436	Sept. 9 ’01	Sept. 11 ’01	Sept. 24 ’01	15	15	34	500	400	20	2000	1500	1600	$106^{2}/_{3}$
2508	Oct. 7 ’01	Oct. 17 ’01	Nov. 4 ’01	28	18	33	200	200	0	600	500	600	120
2511	„ 7 ’01	„ 15 ’01	„ 13 ’01	37	29	33	200	200	0	600	500	600	120
2557	Nov. 2 ’01	Nov. 7 ’01	„ 21 ’01	19	14	32	250	250	0	1750	1500	1750	$116^{2}/_{3}$
2694	Dec. 16 ’01	Dec. 19 ’01	Jan. 6 ’02	21	18	31	300	300	0	2400	2000	2400	120
2607	Nov. 26 ’01	„ 4 ’01	Dec. 11 ’01	15	7	30	400	400	0	3600	3000	3600	120
2612	„ 27 ’01	„ 4 ’01	„ 12 ’01	15	8	30	200	200	0	1200	1000	1200	120
2635	Dec. 3 ’01	„ 10 ’01	„ 20 ’01	17	10	30	500	400	20	2500	2000	2000	100
2752	„ 31 ’01	Jan. 22 ’02	Mar. 7 ’02	66	34	30	500	500	0	3500	3000	3500	$116^{2}/_{3}$
2786	Jan. 15 ’02	„ 22 ’02	Febr. 5 ’02	21	14	30	600	600	0	2400	2000	2400	120
03148	Mar. 8 ’02	July 18 ’02	Aug. 8 ’02	153	21	23	200	200	0	600	500	600	120
03158A	„ 10 ’02	Aug. 28 ’02	Sept. 6 ’02	180	9	23	200	200	0	600	500	600	120
03210	April 1 ’02	„ 8 ’02	Aug. 18 ’02	139	10	23	250	250	0	1250	1000	1250	120
03429	June 12 ’02	July 11 ’02	„ 1 ’02	50	21	23	400	400	0	800	500	800	160
03218	April 4 ’02	Aug, 25 ’02	Sept. 3 ’02	152	9	22	300	300	0	2400	2000	2400	120
03454	June 13 ’02	„ 20 ’02	„ 2 ’02	81	5	22	250	250	0	1250	1000	1250	125
03195	Mar. 28 ’02	Sept. 29 ’02	Oct. 4 ’02	190	5	21	200	200	0	600	500	600	120
03207A	April 1 ’02	„ 11 ’02	Sept. 18 ’02	170	7	21	400	400	0	1200	1000	1200	120
03325	„ 19 ’02	„ 5 ’02	„ 12 ’02	146	7	21	250	250	0	1250	1000	1250	125
03618	July 29 ’02	„ 25 ’02	Oct. 6 ’02	69	11	21	300	250	$16^{2}/_{3}$	1800	1500	1500	100
03720	Aug. 27 ’02	„ 30 ’02	„ 6 ’02	40	6	21	500	400	20	2000	1500	1600	$106^{2}/_{3}$
03432	June 12 ’02	Oct. 24 ’02	„ 31 ’02	141	7	20	250	250	0	1250	1000	1250	125
03440A	„ 12 ’02	„ 31 ’02	Nov. 10 ’02	151	10	20	200	200	0	600	500	600	120
03748	Aug. 28 ’02	„ 21 ’02	„ 3 ’02	66	13	20	300	250	$16^{2}/_{3}$	1800	1500	1500	100
03772	Sept. 10 ’02	„ 24 ’02	„ 5 ’02	55	11	20	300	300	0	2400	2000	2400	120
03840	„ 27 ’02	„ 28 ’02	„ 4 ’02	37	7	20	500	400	20	2000	1500	1600	$106^{2}/_{3}$
03584B	July 26 ’02	Nov. 24 ’02	Dec. 6 ’02	133	12	19	200	200	0	600	500	600	120
3844	Sept. 27 ’02	„ 11 ’02	Nov. 24 ’02	58	13	19	300	300	0	2400	2000	2400	120
3863	Sept. 30 ’02	Nov. 26 ’02	Dec. 5 ’02	66	10	19	250	200	$16^{2}/_{3}$	1250	1000	1000	100
3971	Oct. 22 ’02	„ 26 ’02	Jan. 15 ’02	85	51	19	300	300	0	1800	1500	1800	120
3972	„ 22 ’02	„ 13 ’02	Dec. 1 ’02	40	50	19	250	200	$16^{2}/_{3}$	1250	1000	1000	100
3973	„ 22 ’02	„ 7 ’02	Nov. 14 ’02	22	7	19	600	600	0	1800	1500	1800	120
3980	„ 24 ’02	„ 7 ’02	„ 13 ’02	19	6	19	300	300	0	2400	2000	2400	120
3982	„ 24 ’02	„ 4 ’02	„ 10 ’02	17	6	19	750	600	20	2250	1500	1800	120
3996B	„ 27 ’02	„ 26 ’02	Dec. 5 ’02	39	9	19	400	400	0	1200	1000	1200	120

Operation No.	Date of bleeding	Date of test	Date of issue from Laboratory	No. days held in Lab.	No. days between test and issue	No. months between tests	Original potency per ccm	Present potency per ccm	Deterioration %	Total units in original pkg.	Labeled	Total units in returned pkg.	% of label
04000	Oct. 28 '02	Nov. 29 '02	Jan. 16 '03	80	49	19	200	200	0	600	500	600	120
04022A	Nov. 4 '02	„ 13 '02	Nov. 24 '02	20	11	19	500	500	0	2500	2000	2500	125
04023	„ 4 '02	„ 24 '02	Dec. 1 '02	28	8	19	600	500	$16^{2}/_{3}$	3000	2000	2500	125
04027	„ 4 '02	„ 19 '02	Jan. 15 '03	42	57	19	300	300	0	2400	2000	2400	120
04029	„ 4 '02	„ 13 '02	Dec. 6 '02	33	24	19	400	300	25	800	500	600	120
04063	„ 17 '02	„ 26 '02	„ 22 '02	36	27	19	500	500	0	3500	3000	3500	$116^{2}/_{3}$
03864B	Sept. 30 '02	Dec. 3 '02	Jan. 15 '03	107	43	18	250	250	0	1250	1000	1250	125
03994	Oct. 26 '02	„ 8 '02	„ 13 '03	79	5	18	300	300	0	1800	1500	1800	120
04054	Nov. 17 '02	„ 11 '02	Dec. 23 '02	37	12	18	500	400	20	2500	2000	2000	100
04055	„ 17 '02	„ 17 '02	Jan. 17 '03	62	31	18	400	333	$16^{2}/_{3}$	1200	1000	1000	100
04058	„ 17 '02	„ 31 '02	Febr. 10 '03	86	41	18	300	250	$16^{2}/_{3}$	1800	1500	1500	100
04059	Nov. 18 '02	Dec. 31 '02	Jan. 31 '03	74	31	18	400	333	$16^{3}/_{4}$	1200	1000	1000	100
04064	„ 18 '02	„ 8 '02	„ 17 '03	60	40	18	500	500	0	3500	3000	3500	$116^{2}/_{3}$
04079	„ 25 '02	„ 8 '02	„ 16 '03	53	39	18	500	500	0	2000	1500	2000	$133^{1}/_{3}$
04081C	„ 25 '02	„ 12 '02	Mar. 9 '03	105	87	18	200	200	0	600	500	600	120
04083	„ 24 '02	„ 11 '02	Jan. 19 '03	57	39	18	300	300	0	2400	2000	2400	120
04087	„ 25 '02	„ 21 '02	„ 14 '03	50	24	18	500	500	0	2500	2000	2500	125
04177	Dec. 16 '02	Jan. 14 '03	Mar. 9 '03	83	54	18	500	400	20	2000	1500	1600	$106^{2}/_{3}$
04024	Nov. 4 '02	„ 7 '03	Jan. 26 '03	53	19	17	250	200	$16^{2}/_{3}$	1250	1000	1000	100
04056A	„ 17 '02	„ 7 '03	„ 19 '03	63	43	17	400	400	0	800	500	800	160
04077	„ 25 '02	„ 17 '03	Febr. 10 '03	78	24	17	400	400	0	1200	1000	1200	120
04086	„ 24 '02	„ 10 '03	Mar. 26 '03	123	75	17	500	400	20	2000	1500	1600	$106^{2}/_{3}$
04151A	Dec. 6 '02	„ 30 '03	Febr. 23 '03	79	24	17	200	200	0	1200	1000	1200	120
04179	„ 16 '02	„ 31 '03	„ 13 '03	59	13	17	500	500	0	2000	1500	2000	$133^{1}/_{3}$
04180	„ 15 '02	„ 24 '03	Mar. 19 '03	94	54	17	600	500	$16^{2}/_{3}$	2400	2000	2000	100
04132	„ 2 '02	Febr. 13 '03	„ 23 '03	111	38	16	750	500	$33^{1}/_{3}$	3000	2000	2000	100
04240	Dec. 30 '02	April 20 '03	April 30 '03	131	10	16	300	250	$16^{2}/_{3}$	1800	1500	1500	100
03427	June 12 '02	Mar. 10 '03	„ 14 '03	306	35	15	200	200	0	600	500	600	120
04201	Dec. 22 '02	„ 23 '03	„ 28 '03	127	36	15	400	400	0	1200	1000	1200	120
04049	Nov. 17 '02	April 7 '03	June 6 '03	202	60	14	250	200	$16^{2}/_{3}$	1250	1000	1000	100
04739	April 21 '03	May 28 '03	„ 22 '03	62	25	13	300	300	0	2400	2000	2400	120
04245	Dec. 29 '02	June 11 '03	July 13 '03	196	32	12	600	600	0	2400	2000	2400	120
04262	Jan. 5 '03	„ 5 '03	„ 23 '03	199	48	12	400	400	0	1200	1000	1200	120
04307D	„ 20 '03	„ 16 '03	„ 15 '03	176	29	12	600	600	0	1800	1500	1800	120
04308	„ 20 '03	July 3 '03	Sept. 11 '03	234	70	11	500	500	0	3500	3000	3500	$116^{2}/_{3}$
04537	Mar. 13 '03	„ 31 '03	„ 2 '03	173	33	11	400	400	0	800	500	800	160
04562C	„ 17 '03	„ 31 '03	Oct. 6 '03	203	67	11	500	500	0	2000	1500	2000	$133^{1}/_{3}$
04684C	April 14 '03	Aug. 12 '03	Sept. 28 '03	167	47	10	600	600	0	3600	3000	3600	120
05036	July 22 '03	Nov. 3 '03	Nov. 28 '03	129	25	7	250	250	0	1875	1500	1875	125
05173	Aug. 22 '03	„ 6 '03	„ 11 '03	81	5	7	250	250	0	1250	1000	1250	125

3) The demand frequently made for fresh antitoxin is therefore not justified nor is it advisable, because the serum at hand may have passed its time limit, to postpone the treatment of a case until the receipt of fresh serum.

Nachdruck verboten.

Ueber „Cyllin“.

Von Dr. **German**, Assistenten an der med. Poliklinik, Göttingen.

Mit 1 Figur.

Auf Anregung des Herrn Prof. v. Esmarch unternahm ich es, die Wirkung eines seit neuerer Zeit mehr und mehr bekannt gewordenen Desinfektionsmittels in einer fortlaufenden Versuchsreihe zu prüfen. Von England aus unter dem Namen „Cyllin“ in den Handel gebracht, ist es bereits von einer Reihe namhafter Autoren empfohlen worden. Das Resultat unserer Untersuchungen war, um das gleich vorauszuschicken, ebenfalls ein außerordentlich günstiges, wenn sich auch die hier gewonnenen Resultate nicht immer mit den von den erwähnten Forschern mitgeteilten deckten.

Ein von Prof. Dr. Schattenfroh-Wien dem „Cyllin“ mitgegebener Geleitsbrief stimmt in seinen Angaben durchaus mit unserem Befunde überein. Es heißt, da daß $^1/_4$-proz. Verdünnungen von „Cyllin“ ähnlich wirkten wie $^3/_4$-proz. Lösungen von Lysol und günstiger als 1-proz. Karbolsäure. Und ferner „ergab sich, daß $^1/_2$-proz. Verdünnungen von ‚Cyllin‘ in 5 Minuten einen Staphylococcus abtöteten“.

Dasselbe können wir auf Grund unserer Beobachtung bestätigen, wie aus der am Schlusse aufgeführten Tabelle zu ersehen ist. Einschränkend verdient wohl aber hervorgehoben zu werden, daß unter sonst gleichen Bedingungen bei dem Versuche mit dem Typhusbacillus die Grenze etwas höher hinaufgerückt war. Hier konnte wiederholt noch nach einer zeitlichen Einwirkung von 8 Minuten mit $^1/_2$-proz. Cyllinlösung deutliches Wachstum beobachtet werden. 10 Minuten Einwirkungszeit brachte den Typhusbacillus zum Absterben.

Abweichend von dem Berichte des Herrn Prof. Schattenfroh war unser Resultat mit der 1-proz. Kontroll-Karbolsäurelösung. Auch wir bedienten uns des Staphylococcus pyogenes aureus als Testobjekt und der Karbolsäure als Kontrollösung. Als oberste Grenze der zeitlichen Einwirkung seiner 1-proz. Karbolsäure gibt Prof. Schattenfroh 40 Minuten an, während wir noch nach 60 Minuten ein weiteres Wachstum des Staphylococcus beobachteten. Bei dem Typhusbacillus ferner bewegte sich die oberste Grenze sogar zwischen 65 und 70 Minuten, während $^1/_2$-proz. Karbolsäure selbst nach 3-stündiger Einwirkung kein Absterben des Typhusbacillus herbeizuführen vermochte.

Mehr Details seiner Versuche und Erläuterung des Verfahrens bei den angestellten Untersuchungen gibt Prof. Dr. Klein-London. (The Lancet. 1903. March 21.)

Er gebrauchte Verdünnungen des „Cyllins“, wie folgt:

1 : 1500
1 : 1000
1 : 500
1 : 2400
1 : 2200

Die zeitliche Einwirkung dieser Lösungen bewegte sich zwischen 5 bis 15 Minuten. Als Testobjekt kam der B. pestis zur Anwendung, gewonnen von einer 48-stündigen Kultur. Seine Versuche ergaben durchweg ein positives Resultat. Nur in einem Falle wurde bei einer Lösung von 1 : 2400 nach 5 Minuten noch weiteres Wachstum des Pestbacillus erzielt.

Zu fast denselben Resultaten gelangten wir schließlich bei unseren Versuchen mit dem Diphtherie- und besonders mit dem Cholerabacillus. So fanden wir als unterste Grenze der Wirksamkeit des Cyllins gegen den Diphtheriebacillus eine Lösung von 1 : 1600 bei 5—10 Minuten Einwirkungsdauer und für den Cholerabacillus Verdünnungen von 1 : 2000 bei einer Einwirkungszeit von 15—20 Minuten. Vergleicht man in der Tabelle die für den Typhusbacillus gefundene Zeitdauer, die erforderlich war, um ihn mittels 1/2- resp. 1/4-proz. Cyllinlösung zum Absterben zu bringen, mit der bei dem Staphylococcus gefundenen, so zeigt sich ein Unterschied in dem ersten Falle von 5, im anderen von 10 Minuten. Die Grenze ist also hier in die Höhe gerückt. Zieht man dagegen die Resultate mit der 1- bezw. 1/2-proz. Karbolsäure bei eben denselben Bakterien in Betracht, so liegt der Unterschied zu Gunsten des „Cyllins“ deutlich zutage.

Aehnliche Resultate, wie die bereits erwähnten, erzielte auch Herr Prof. Fraenkel-Halle. (Literatur über „Cyllin“ Carl Derbsch-Köln.) Er brachte bei seinen Versuchen ein Verfahren zur Anwendung, wie es auch in der im März 1904 erschienenen Dissertation von H. Nothen aus Köln „Beiträge zur bakteriologischen Prüfung von Desinfektionsmitteln“ angeführt ist. Auch unsere Versuche beruhen auf diesem Verdünnungsverfahren.

Verfahren: 4 ccm sterilen Wassers wurden im sterilen Reagenzglase mit 1 ccm in Bouillon gelöster Pilzkultur versetzt. Dazu wurde die gleiche Menge (also 5 ccm) Desinfektionslösung gegeben und davon nach bestimmten Zeitabschnitten in Bouillon und auf Gelatine abgeimpft. Und zwar wurden jedesmal 2—3 Proben mit der ausgeglühten Platinöse davon entnommen.

Die Gelatineplatten blieben eine Woche unter Beobachtung. Die Bouillon blieb 24 Stunden im Brütschranke und wurde danach auf Agar weiter verimpft, sobald sich eine Trübung derselben während der Bebrütung eingestellt hatte. Nach weiteren 12—24 Stunden konnte so der Nachweis erbracht werden, ob und was daselbst gewachsen war.

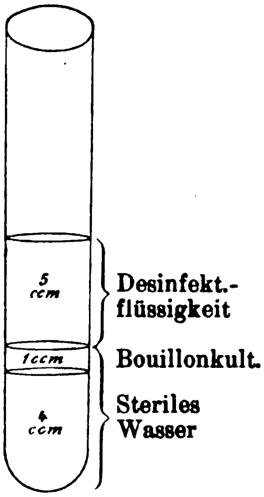


Tabelle I.

Staphylococcus pyogenes aureus. 24 Stdn. alt.

	Minuten:							
Karbolsäure 1 Proz.	60	65	70	75				
	+	—	—	—				
„ 1/2 „	120	145	160	180				
	+	+	+	+				
Cyllin 1/2 Proz.	2	5	8	10	15			
	+	—	—	—	—			
„ 1/4 „	5	8	10	15	20	22	25	30
	+	+	+	+	+	(+—)	—	—

Tabelle II.

B. typhosus. 24 Stdn. alt.

	Minuten:
Karbolsäure 1 Proz.	60 — 65 — 70 — 75
	+ + — —
„ $^1/_2$ „	160 — 180
	+ +
Cyllin $^1/_2$ Proz.	5 — 8 — 10 — 15
	+ + — —
„ $^1/_4$ „	25 — 30 — 35 — 40 — 45
	+ + — — —

Tabelle III.

a) Diphtheriebacillus.

	Minuten:
Cyllin 1:800	2 — 4 — 5
	+ — —
„ 1:1600	5 — 10 — 15
	+ — —

b) Cholerabacillus.

	Minuten:
Cyllin 1:1600	2 — 3 — 4 — 5
	+ + + —
„ 1:2000	3 — 5 — 10 — 15
	+ + + +

Aus dem Gesagten geht hervor, daß wir in dem „Cyllin“ einen sehr schätzenswerten Desinfektionskörper gewonnen haben. Man hat deshalb auch schon daran gedacht, das Mittel therapeutischen Zwecken dienstbar zu machen. So hat man es mit gutem Erfolge bei lokalen Erkrankungen des Mundes und des Rachens, bei Diphtherie und ähnlichen Schleimhautaffektionen als Desinficienz angewendet und mittels eines Zerstäubers direkt auf den Ort der Erkrankung einwirken lassen. Aber auch bei tieferen Erkrankungen der Luftwege, bei Bronchitis und selbst bei tuberkulösen Lungenerkrankungen hat man „Cyllin“ einatmen lassen und bereits recht günstige Resultate damit erzielt. (Report Brit. Congr. on Tuberculosis. London 1901.)

Wenn sich auch die Versuche bis jetzt nur in bescheidenen Grenzen gehalten haben, so ermuntern sie doch nach der Richtung hin damit fortzufahren.

Erst längere praktische, besonders auch klinische Beobachtung, zumal rücksichtlich der Intoxikationsgefahr, wird ein abschließendes Urteil über den therapeutischen Wert des Mittels ermöglichen.

Inhalt.

Bartel, Julius und **Stein, Robert**, Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen, p. 154.

Bruini, G., Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals, p. 177.

Czarnecka, L., Ueber die Konservierung der Lebensfähigkeit und Virulenz der Mikroben im Markgewebe beim Austrocknen, p. 164.

Delfino, Juan Carlos, Immunisierung des Kaninchens gegen das Bakterium der Geflügelcholera (Vaccin Lignières), p. 231.

Fermi, Claudio und **Bassu, E.**, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose, p. 138.

Gaehtgens, Walter, Der Bacillus jasminocyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue Farbstoff bildende Bakterien, p. 129.

Galli-Valerio, Bruno und **Rochaz-de Jongh, Jeanne**, Ueber die Wirkung von Aspergillus niger und A. glaucus auf die Larven von Culex und Anopheles, p. 174.

German, Ueber „Cyllin“, p. 237.

Ghon, Anton u. **Sachs, Milan**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. III. [Schluß.], p. 131.

Hollack, Johanna, Die Häufigkeit der Trematoden bei Rana esculenta Lin., p. 199.

de Jong, D. A., Die Steigerung der Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus zu der des Rindertuberkelbacillus, p. 146.

Kerner, Julius, Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken, p. 223.

Kikuchi, Yonetaro, Ueber den Einfluß erhöhter Temperatur auf die bakterizide Wirkung des normalen Serums, p. 220.

Klein, E., Ueber einen neuen tierpathogenen Vibrio — Vibrio cardii, p. 173.

Konrádi, Daniel, Weitere Untersuchungen zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa, p. 194.

Lüdke, H., Zur Spezifität der Antikörper. [Forts.], p. 209.

Miller, E. C. L., On the keeping qualities of antidiphtheritic serum, p. 233.

Mori, Nello, Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie. [Schluß.], p. 186.

Rothberger, C. Julius, Ueber ein akut wirkendes Bakterientoxin. II., p. 165.

Veszprémi, D., Kultur- und Tierversuche mit dem Bacillus fusiformis und dem Spirillum, p. 136.

Wirgin, Germund, Ueber den Einfluß des Aethylalkohols auf die Bildung von agglutinierenden Stoffen bei Kaninchen nach intravenöser Impfung mit M. pyogenes aureus oder mit B. typhi, p. 200.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 3.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über Anaërobiose.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Sassari.]

II. Mitteilung.

Von Prof. **Claudio Fermi,** unter Mitwirkung von **E. Bassu,** stud.

Mit 13 Figuren.

(Fortsetzung.)

Jeder einzelne Versuch wurde stets von einem Kontrollversuche begleitet, nämlich mittels gleicher Kulturarten, indem wir das Chromchlorür durch Wasser ersetzten, um die Austrocknung der dünnen Agarschicht zu verhindern. Andere Cylinder ließen wir halb geöffnet, um zu entscheiden, ob das Chromchlorür der Entwickelung der Anaëroben nur infolge seines Vorhandenseins, und abgesehen von seiner reduzierenden Eigenschaft, schädlich war. Diese Kontrollen zeigten uns, daß das Chromchlorür außer seiner reduzierenden Kraft keinen anderen Einfluß auf die Anaëroben ausübte, da wir immer Entwickelungen von Schizomyceten, Hyphomyceten und Blastomyceten erzielten, wenn wir erlaubten, daß nun auch in sehr geringer Quantität die atmosphärische Luft bis zu denselben gelangen konnte.

2. Versuch. Um eine größere Anzahl von Kulturen nach der angegebenen Weise herstellen zu können und um dieselbe zu vereinfachen, haben wir die Cylinder durch die gewöhnlichen Eprouvetten ersetzt (Fig. 5). Dieselben wurden zu drei Vierteln mit Chromchlorür gefüllt, sodann luftdicht mit Korken, welche vorher in Paraffin gekocht waren und auf der inneren Oberfläche die Kulturplatte trugen, geschlossen. Der Kork wurde dann an der äußeren Seite paraffiniert und mit Lanolin bedeckt. Die auf diese Weise bereiteten Eprouvetten wurden dann in Oel enthaltende Cylinder gesenkt.

Wir bedienten uns auch der Gummistöpsel, durch welche wir ein kleines Glasstäbchen führten, an welches wir mittels Kitt die Impfglasplatte anbrachten.

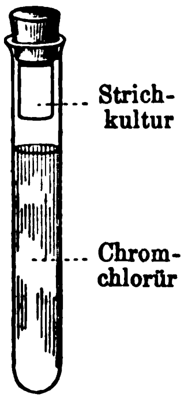


Fig. 5.

Der Unterschied zwischen dem einen oder dem anderen Verschlußsystem war unbedeutend.

Wie gewöhnlich, vergaßen wir auch in diesem Falle die Kontrollversuche nicht, in denen wir immer eine Entwickelung wahrnahmen.

Resultat: Diese Methode ist sehr gut, verlangt jedoch eine große Genauigkeit in der Bereitung, da sehr leicht neue Luft, ja sogar reduziertes Chromchlorür in die Eprouvette gebracht werden kann.

In der Tat bemerkten wir manchmal, wie das Chromchlorür sich in einigen Eprouvetten schneller oxydierte als in anderen desselben Versuches, und daß die Eprouvetten, welche ein wenig oxydiertes Chromchlorür enthielten, immer eine, wenn auch sparsame Entwickelung zeigten, als andere, in denen das Chromchlorür sich blau erhalten hatte.

3. Versuch. Um auf die Impfung einen stärkeren Einfluß des Chromchlorürs wirken zu lassen, haben wir versucht, die freie Ober-

fläche desselben fast mit dem Substrat in Berührung zu bringen. Zu diesem Zwecke bedienten wir uns gewöhnlicher Glasröhren (Fig. 6), welche wir fast bis an den Hals mit Chromchlorürlösung füllten. Diese Arbeit fand natürlich in Gegenwart von Kohlensäureanhydrit statt. Die Röhren wurden mit Gummistöpseln verschlossen, an deren innerer Oberfläche die Kulturplatte, welche aus einem runden, mit einer leichten Agarschicht bedeckten Objektträger bestand, angebracht wurde.

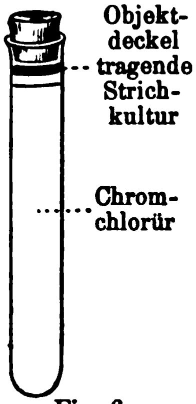


Fig. 6.

Resultat: Dieses System entsprach unseren Bemühungen, da das Chromchlorür sich verhältnismäßig langsam oxydierte.

Wir entschlossen uns daher, diese Technik noch zu verbessern, und zwar auf folgende Weise:

4. Versuch. Auf der inneren Oberfläche des Bodens gewöhnlicher kleinerer Kristallisatoren, in CO^2 gelegen, breiteten wir eine dünne Agarschicht aus (Fig. 7 *A*). Nach der Impfung kehrten wir die Kristallisatoren in einer mit Chromchlorürlösung später zu füllenden und mit hohen Seiten und einem geschmirgelten Glasdeckel versehenen Kapsel um. Wir befestigten dann den Boden des Kristallisators *A* an dem inneren Teil des Deckels der Kapsel *B*, so daß er in die Flüssigkeit zu stehen kam, ohne daß dieselbe mit der Kultur in Berührung kommen konnte und damit leicht herauszuziehen war.

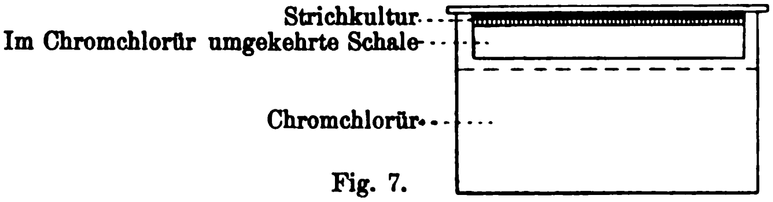


Fig. 7.

Resultat: Da bei diesem guten System die Kulturkapsel sehr schnell in die andere gesenkt werden mußte, war die zwischen dem Chromchlorür und der Kultur befindliche Gasschicht etwas groß.

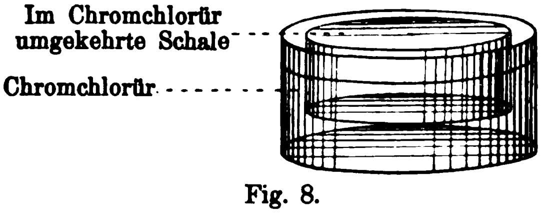


Fig. 8.

5. Versuch. In Hinsicht auf den in der vorigen Methode wahrgenommenen Uebelstand ersetzten wir die Krisallisatoren durch den Petrischen Kapseldeckel (Fig. 8 *A*), auf dessen innerem Boden wir das Substrat ausbreiteten. Die Kapsel wurde sodann an der inneren Oberfläche des geschmirgelten Deckels der anderen, größeren Kapsel *B* befestigt. Auf diese Weise erreichten wir, daß die Chromchlorürlösung fast das Substrat berührte.

Resultat: Bei dieser Methode behielt das Chromchlorür seine blaue Farbe noch besser als im vorigen Versuche, auch entspricht sie besser dem biologischen Versuche, da der Entwickelungsunterschied der vorgenommenen Kontrollen sehr bedeutend war.

6. Versuch. Wir bereiten Plattenkulturen, indem wir uns anstatt der Kapsel der inneren Oberfläche von Wägegläschendeckeln bedienten (Fig. 9).

Der Versuch wurde in einem Raume von Kohlensäureanhydrit und auf folgende Weise vorgenommen:

Mittels zweier **Rippscher** Apparate (Fig. 9 *K K'*) führten wir einen Strom von Kohlensäureanhydrit in zwei sehr tiefe und weite Kristallglocken *C C'*, auf deren Boden wir auf einer Schicht von zusammengemischtem Paraffin und Vaselin *V V'* sowohl die Cylinder *a a'* als auch die Stöpsel *b b'* der Wägegläschen befestigten.

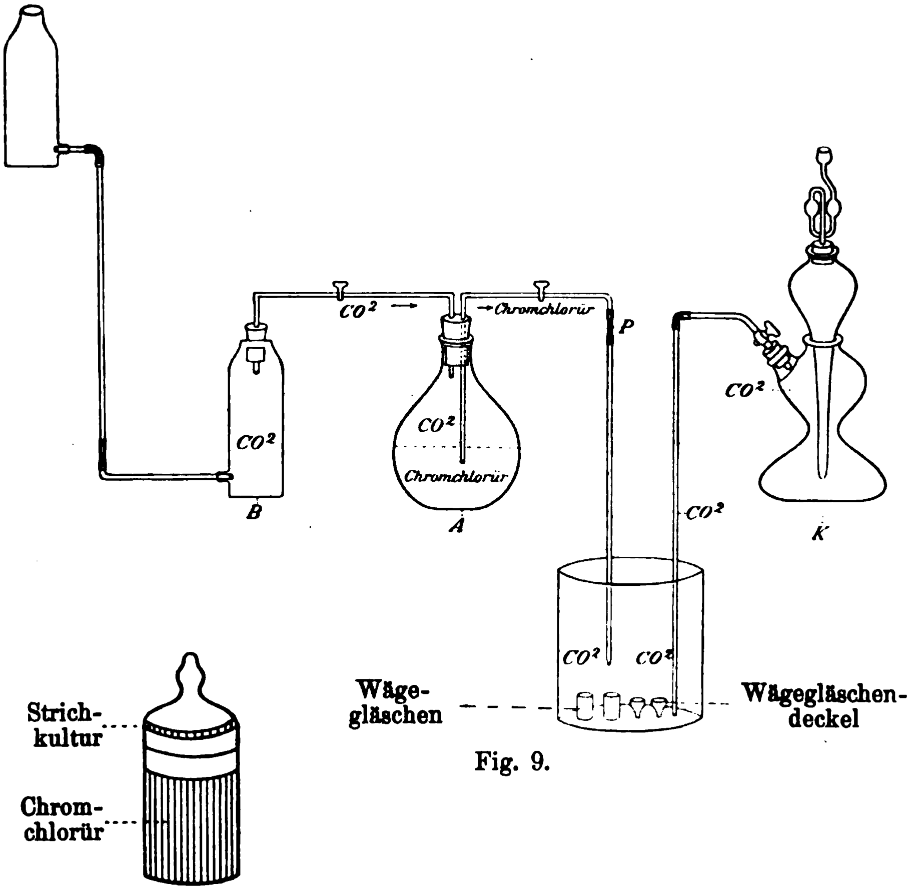


Fig. 9.

Nachdem wir die ganze Luft aus den Cylindern *C C'* getrieben hatten (wovon wir uns versicherten, indem wir eine Eprouvette mit abgekochtem Ac. pyrog., in das wir ein Stück Aetzkali warfen, auf dem Boden derselben anbrachten), und nachdem wir noch einmal während einer guten halben Stunde den Strom von Kohlensäureanhydrit hatten durchziehen lassen, wobei wir besonders darauf achteten, denselben in die einzelnen Cylinder der Wägegläschen zu treiben, wie man bei *a* sieht; gossen wir auf den Boden der Deckel der Wägegläschen eine leichte Schicht von Agar, welchen wir vorher abgekocht hatten und durch welchen wir längere Zeit hindurch einen Kohlensäureanhydritstrom hatten gehen lassen. Sobald der Agar dicht geworden war, nahmen wir die Impfung der zu untersuchenden Mikroorganismen vor.

Nachdem wir sodann die Stärke des Kohlensäureanhydrits, welches durch das Rohr *e* des Chromchlorür enthaltenden Apparats *A* herausströmte, untersucht hatten, leiteten wir mittels eines Glasrohres *J*, indem wir den Druck des Apparats *B* steigerten, die gewünschte Menge Chromchlorür in die Cylinder der Wägegläschen. Die Druckpinzette *F* regulierte den Durchzug.

Sobald jedes einzelne Wägegläschen gefüllt war, wurde es sofort verschlossen und der Deckel mit dem untenstehenden Vaselinparaffin bestrichen. Diese Methode ergibt folgende Vorteile:

1) Man arbeitet immer in einem Raume von Kohlensäureanhydrit.

2) Das Gasvolumen, welches sich zwischen der freien Oberfläche des Chromchlorürs und der Impfung befindet, ist von einem sehr starken Himmelblau.

Resultat: Mit dieser Methode erlangten wir verschiedene Vorteile der vorhergehenden Methode gegenüber; sie entspricht folgenden Eigenschaften:

1) Entfernung des Sauerstoffs der Luft, indem dieser durch Kohlensäureanhydrit ersetzt wird.

2) Absorbierung des Sauerstoffs mittels Chromchlorürs.

3) Reduktion des sich zwischen dem Chromchlorür und der Impfung befindenden Gasvolumens.

4) Entfernung des freien Sauerstoffs aus dem Substrat mittels Aufkochens, indem wir einen Strom von Kohlensäureanhydrit hindurchziehen und dann das Substrat in Gegenwart desselben gerinnen ließen und überdies dasselbe verdünnten.

5) Verhinderung des Eindringens des Sauerstoffs.

Nachdem dies geschehen war, stellten wir Versuche mit den verschiedenen Anaëroben an.

Resultat: Wir bemerkten Spuren von Entwickelung nur in den Kulturen, deren Chromchlorür grün geworden war, was beweist, daß die Entwickelung in direkter Verbindung mit den vorhandenen Spuren von Sauerstoff in den Kulturen stand.

Die Entwickelung zeigte sich nie längs der Impflinie durch Bestreichung, seltener in denen durch Stich, als in jenen durch Aussaat.

In allen Kontrollversuchen, in welche wir Luft dringen ließen, war die Entwickelung eine reichliche.

* * *

Methode VI. Vorversuch über die reduzierende Kraft des Phosphors — Vertreibung des O_2 durch Aufkochen und CO_2-Strom — Fixierung des O_2 durch Phosphor und Kali pyrogallicum.

Bekanntlich ist der beste Fixator des Sauerstoffs der atmosphärischen Luft der Phosphor, und ganz besonders der angezündete. Die schädliche Wirkung aber, die er auf die Entwickelung der Mikroorganismen ausübt, macht ihn zu unserem Zwecke nicht sehr geeignet.

1. Versuch. Phosphor bei gewöhnlicher Temperatur.

Wir bereiteten Strichkulturen verschiedener Mikroorganismen (Fig. 10) und verschlossen dieselben luftdicht mittels eines mit Paraffin bestrichenen Stöpsels (*a*), an welchem wir ein Stück Phosphor (*b*) vom Gewicht eines Gramms anbrachten. Sechs andere Röhrchen, die zur Kontrolle dienten, verschlossen wir einfach. Bevor wir die Kulturen in den Thermostaten brachten, hielten wir sie einige Tage hindurch bei niedriger Temperatur, um dem Phosphor Zeit zu lassen, den Sauerstoff zu fixieren, ehe die Keime sich entwickeln konnten.

Die Kontrollen machten wir in halb geöffneten, ebenfalls Phosphor enthaltenden Röhrchen.

Resultat: In den Phosphor enthaltenden Röhrchen fanden wir eine spärlichere Entwickelung als in den Kontrollröhrchen, in welchen sich sehr zahlreiche Kolonieen zeigten.

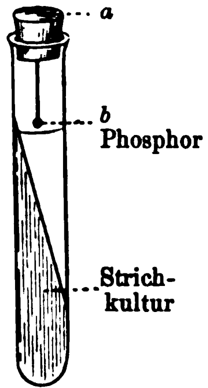


Fig. 10.

Versuch. Ein Glasballon *B* (Fig. 11), welcher zuvor mit pyrogallussaurem Kali gewaschen wurde und in welchem sich eine Lösung von Pyrogallussäure befand, wurde in eine weite Glocke *A* gesetzt, durch welche beständig ein Strom von Kohlensäureanhydrit geleitet wurde.

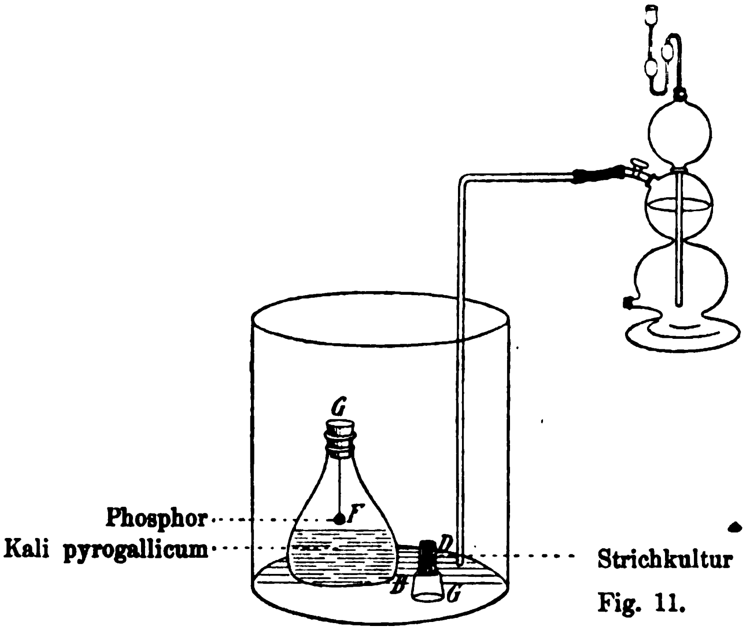


Fig. 11.

Mittels eines Amianthfadens wurde ein Stück Phosphor *F* am Stöpsel befestigt. Letzteres wurde angezündet, indem wir es mit dem Ende eines erhitzten Glasstäbchens berührten, und der Ballon wurde geschlossen. Auf diese Weise wird der Sauerstoff im Ballon aufgesaugt und die den Mikroorganismen schädlichen Pentoxyddämpfe werden mittels der unterstehenden Lösung von Pyrogallussäure fixiert.

Nachdem die weißen Dämpfe aufgehört haben, entfernt man den Stöpsel *C* vom Ballon und ersetzt ihn durch einen anderen C^1, an welchem eine kleine Scheibe *D* mit der Agarschicht, die man in Gegenwart von Kohlensäureanhydrit in derselben Glocke geimpft hat, angebracht wird. Bevor man den Ballon mit dem Kulturstöpsel schließt, bringt man ein Stück Aetzkali in die Lösung von Pyrogallussäure, um mit dem sich bildenden Kali pyrog. die letzten Spuren von Sauerstoff, die möglicherweise im Ballon zurückgeblieben sind, zu fixieren.

Der Stöpsel wird ringsherum mit Paraffin oder Lanolin bedeckt, und die Kultur in den Thermostaten gesetzt.

Diese Methode versetzt uns in die Lage, gleichzeitig folgende anaërobische Mittel zu benutzen:

1) Absorbierung des Sauerstoffs durch den angezündeten Phosphor.

2) Absorbierung des Sauerstoffs durch das Kali pyrog.

3) Ausscheidung des Sauerstoffs aus dem Substrat durch Aufkochen.

4) Absorbierung des Sauerstoffs des Substrats durch einen darin aufgelösten reduzierenden Stoff.

5) Reduktion bis zum Minimum des im Substrat sich befindenden Restes von Sauerstoff, indem man denselben in einer sehr dünnen Schicht ausbreitet.

6) In einem Raume von Kohlensäureanhydrit zu arbeiten.

* * *

Methode VII. **Fixierende Kraft der Blastomyceten.**

In dieser Reihe von Versuchen haben wir versucht, die Gier, mit welcher die Blastomyceten den Sauerstoff fixieren, auszunutzen. Vor allem wollten wir uns überzeugen, ob die Blastomyceten die Entwickelung der Anaërobien nicht verhindern. In der Tat haben wir infolge besonderer Versuche feststellen können, daß die Mikroorganismen sich ebenso gut in lebenden als in toten Blastomycetenkulturen entwickeln. Um uns zu überzeugen, ob die Blastomyceten wirklich eine große sauerstoffbindende Kraft besitzen, so daß wir sie als Fixatoren des freien Sauerstoffs im Substrat hätten anwenden können, stellten wir folgende Versuche an: Wir bereiteten Emulsionen (Kulturen) von reiner gepreßter Hefe zu 2—5—10 Proz. in Fleischbrühe, verteilten dieselben in Eprouvetten im Verhältnis von 5 ccm und gossen, wie gewöhnlich, 2 ccm Paraffin darauf. Dieses wurde nachher durch Paraffinöl ersetzt, weil die Gase, die sich infolge der Gärung der Blastomyceten bildeten, die auf der Kultur ruhende Paraffinschicht lösten. Es war klar, daß unter diesen Bedingungen die Blastomyceten nur den im Substrat gelösten Sauerstoff ausnutzen konnten, und ihn daher nach und nach verzehren mußten.

Beim Gießen eines Sauerstoffanzeigers in das Substrat mußten wir uns von der mehr oder minder großen Menge desselben im Substrat überzeugen, und indem wir den Versuch in verschiedenen Röhren und Zeiträumen wiederholten, die allmähliche Absorbierung des Sauerstoffs durch einen Teil der Blastomyceten sehen.

Als Sauerstoffindikator benutzten wir das gewöhnliche Kali pyrog. Wir gossen in die in gleicher Weise zubereiteten verschiedenen Rohre eine gleiche Quantität einer gekochten Lösung von Ac. pyrog. und Aetzkali, so oft wir den im Substrat sich befindlichen Sauerstoff untersuchen wollten. Diese Untersuchung stellten wir im Augenblick des Versuchs, nach 2, 4, 10, 24 Stunden, nach 2, 3, 4 Tagen an. Aus der mehr oder minder starken Schwärzung des Substrats schlossen wir auf die mehr oder weniger starke Quantität von freiem Sauerstoff in demselben.

Resultat: Wir haben feststellen können, daß in den Kulturen, die 2—5—10 Proz. Blastomyceten enthielten, der freie Sauerstoff des Substrats sofort fast gänzlich fixiert wurde.

In der Tat zeigte sich keine Schwärzung des Kali pyrog., welches wir ins Substrat gegossen hatten, während es genügte, mittels eines Röhrchens durch die Paraffinölschicht in die Kultur hineinzublasen, um eine schnelle und starke Schwärzung zu erhalten.

Die reduzierenden Eigenschaften der Blastomyceten nutzten wir auf folgende Weise aus: In den vorhergehenden Methoden der Kulturen durch Bestreichung brachten wir eine Schicht Blastomyceten zwischen das Substrat und die Scheibe, auf welches das Substrat gegossen wurde.

Um diese Methode zu kontrollieren, breiteten wir die Schicht Blastomyceten nur auf einer Hälfte der anaëroben Kulturkapsel aus; und erst nachdem die Blastomyceten Zeit gehabt hatten, sich des Sauerstoffs des Substrats zu bedienen, nahmen wir die Impfung vor.

In folgender Tabelle zeigen wir die durch diese Methode erlangten Resultate:

Mikroorganismen	Ohne Blastomyceten	Mit Blastomyceten
B. tetani	+	—
B. oedem. maligni	+	— —
B. anthracis symptomatici	+	+ ?
Anaërob aus Käse No. 1	+	—
„ „ „ „ 2	+	—
Anaëroben aus Faeces No. 1	+	— —
„ „ „ „ 2	—	0
Anaëroben aus faulen Flutgräben No. 1	+	+
„ „ „ „ „ 2	+	—

Resultat: In Korrespondenz der Blastomycetenschicht war die Entwickelung sparsamer oder ganz aufgehoben.

Methode VIII. Vertreibung der Luft mittels eines Stromes von CO_2 und der Quecksilberluftpumpe; Fixierung des O_2 mittels glühenden Kupfers.

Wir erreichten das uns gesteckte Ziel auf folgende Weise (siehe Fig. 12):

1) Man nahm ein langes Rohr (*A*) mit starker Wand in Gebrauch beim Verbrennen organischer Substanzen und füllte den Boden mit einer gegebenen Menge Manganchlorür (*a*).

2) In eine gewisse Entfernung davon brachten wir eine gegebene Menge Kupferspäne (*b*).

3) Legten wir das Rohr horizontal und versahen es am Ende mit einem Kühler (*B*).

4) Führten wir eine kleine Scheibe (*e*), auf der wir eine dünne Agarschicht mit den Stich- und Strichkulturen der zu studierenden Anaërobien mittels eines CO_2-Stromes hatten verdichten lassen, in das Rohr ein.

5) Schlossen wir das Rohr mit einem guten Gummistöpsel, in welchem sich ein Loch befand, durch welches ein kurzes Glasrohr (*d*) führte.

6) Beim Erwärmen mittels einer Flamme entwickelte das Manganchlorür einen reinen CO_2-Strom und vertrieb die Luft.

7) Als wir glaubten, daß die Luft fast gänzlich vertrieben sein konnte, fixierten wir die Spuren des Sauerstoffs, indem wir das Kupfer mittels einer anderen Flamme zum Glühen brachten.

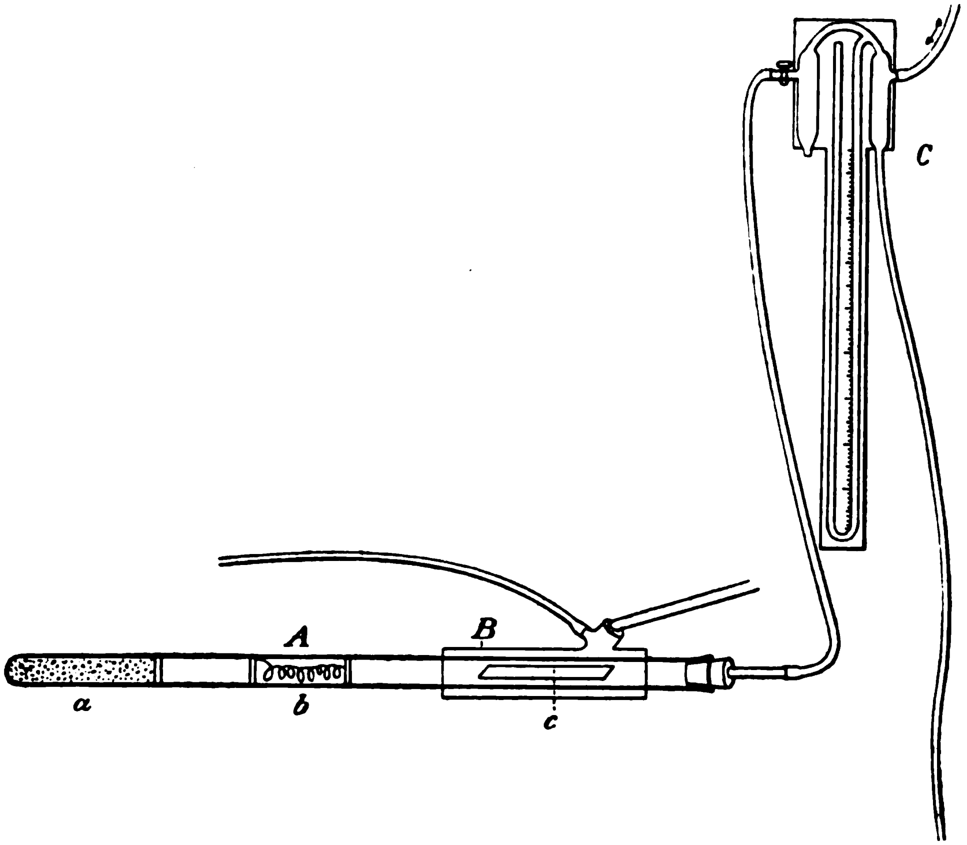


Fig. 12.

8) Der Kühler diente zur Verhinderung der allzu großen Erhitzung der Kulturscheibe.

9) Endlich, während die Produktion des Kohlensäureanhydrits unterbrochen wurde, wurde das Vakuum im Innern des Rohres hergestellt, indem man letzteres mit der Quecksilberluftpumpe (*c*) in Verbindung setzte.

10) Hierauf wurde das Rohr luftdicht verschlossen und in eine Temperatur gebracht, welche die Entwickelung der Impfungen erlaubte.

Resultate: Mit dieser komplizierten Methode erlangten wir noch kein sicheres Resultat.

Unter den verschiedenen Schwierigkeiten, auf die man stieß, ist besonders das leichte Austrocknen der dünnen Agarschicht hervorzuheben.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bacilles d'Eberth dans un kyste de l'ovaire après la guérison d'une fièvre typhoïde.

Par le Dr. **L. Maldague**,
Assistant à l'Institut bactériologique de Louvain (Directeur: J. Denys).

A plusieurs reprises le bacille d'Eberth fut signalé comme agent causal de suppurations survenues plus ou moins longtemps après la guérison d'une fièvre typhoïde. Parmi les localisations des affections éberthiennes posttyphiques, on a rapporté quatre fois seulement, à notre connaissance, un kyste de l'ovaire préexistant.

Le premier cas de ce genre fut relaté par Werth en 1893[1]). Or à cette époque, l'identification du bacille typhique était encore extrêmement difficile. On ne connaissait que ses caractères culturaux, et l'on sait combien il est douteux que l'on puisse d'après les seuls caractères culturaux, établir avec certitude l'identité du bacille typhique. Le colibacille, en effet, et surtout toute la série chaque jour plus nombreuse des coliformes et des éberthiformes ou paratyphiques, présentent des caractères culturaux si semblables à ceux du véritable bacille typhique, que l'on n'attribue plus aujourd'hui de valeur réelle qu'à la réaction d'agglutination du bacille à identifier par du sérum de malade atteint de fièvre typhoïde, ou par du sérum d'un animal fortement vacciné au moyen d'un bacille typhique authentique.

Nous ne voulons pas mettre en doute que dans le cas rapporté par Werth, il s'agissait bien de bacilles typhiques; nous voulons seulement faire ressortir combien ce fait serait douteux, si de nouvelles contributions, dans lesquelles la présence du bacille typhique est complètement établie, ne venaient l'affermir.

Le second cas, rapporté par Sudeck en 1896[2]), n'est pas plus probant. Il l'est plutôt moins; car à côté des bacilles typhiques, Sudeck trouva dans la paroi du kyste d'abord, et plus tard dans le pus qui s'écoulait de la plaie opératoire, un microcoque. Or on sait avec quelle facilité le colibacille s'associe au streptocoque et au staphylocoque dans les suppurations des organes pelviens chez la femme. Dans le cas de Sudeck des colibacilles ou des coliformes, présentant les caractères culturaux du bacille d'Eberth, auraient donc pu venir se localiser dans le kyste ovarique en même temps que les coques.

Encore une fois nous ne voulons pas nier la présence de réels bacilles typhiques dans ce cas, mais simplement montrer l'insuffisance de preuves, qu'il ne faut nullement imputer aux auteurs, mais à l'époque où la réaction de Pfeiffer n'était pas encore en pratique courante.

Le troisième cas est plus probant. Il fut publiè par Pit'ha en 1897[3]). Cette fois l'agglutination fut essayée au moyen du sérum d'un sujet typhisé, et reconnue positive. Mais l'auteur ne nous renseigne pas sur le degré de l'agglutination. Or on sait que le sérum de sujets atteints de fièvre typhoïde agglutine souvent en proportion même notable les colibacilles: parce que sans doute le colibacille s'associe dans un grand nombre des cas au bacille d'Eberth.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1893. p. 489.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1896. p. 498.
[3]) Centralbl. f. Gynäkol. 1897. No. 37. p. 1109.

Le quatrième cas, rapporté par Wallgreen en 1899[1]), est tout à fait démonstratif. La nature des bacilles y est établie: 1° par les caractères culturaux; 2° par la réaction d'agglutination au moyen du sérum d'un malade atteint de fièvre typhoïde; 3° par la réaction d'agglutination au moyen du sérum de cobayes préalablement vaccinés avec le bacille du kyste. L'auteur s'est servi comme témoin, dans ces trois ordres de preuves, d'un bacille typhique authentique qui présentait les mêmes caractères culturaux et s'agglutinait dans les mêmes conditions et sensiblement dans les mêmes proportions que le bacille du kyste.

A ces quatre cas de localisation du bacille d'Eberth dans un kyste de l'ovaire nous pouvons en ajouter un cinquième. Il s'agit d'une femme opérée par Monsieur le Professeur Debaisieux de Louvain, auquel nous témoignons nos remerciements pour la bienveillance avec laquelle il nous a abandonné la relation de ce cas.

Cette femme, Madame A., est prise le 13 septembre 1904 de douleurs abdominales. Il y a de l'inappétence et de la constipation. Cet état perdure quelques jours en s'aggravant et la malade se met au lit. Le 20 septembre, Monsieur le Docteur Dieudonné de Louvain, auquel nous sommes redevable de l'histoire de la malade avant son entrée à l'hôpital, est appelé auprès d'elle. Le Docteur Dieudonné diagnostique une fièvre typhoïde, et son diagnostic est confirmé le lendemain par la réaction de Widal positive à $\frac{1}{200}$. Il constate aussi la présence d'un kyste de l'ovaire droit, gros comme une tête d'enfant, mais ne présentant aucun signe inflammatoire. Jusqu'au 24 l'allure de la maladie est bénigne; la température ne dépasse pas 38,2° et le sensorium reste bon.

„Le 24 octobre", écrit le Docteur Dieudonné, „apparaissent de vives douleurs abdominales localisées dans le flanc droit. Le pouls s'accélère: 90; la température monte à 39°. Le ventre grossit; la palpation de la tumeur est douloureuse. Jusqu'au 1er novembre le pouls oscille entre 90 et 100; la température entre 38° et 39°. Le ventre augmente de plus en plus de volume: matité partout, sauf dans le flanc gauche. La tumeur a dépassé l'ombilic et atteint presque les fausses côtes droites. Les douleurs abdominales continues et souvent vives tourmentent la malade. A partir du commencement de novembre les températures tombent. Elles ne dépassent plus 37° vers le 19 Novembre. Le ventre n'est plus douloureux, mais encore sensible. Les selles sont devenues normales. La malade s'alimente avec plaisir et se lève. Elle a beaucoup maigri; mais elle reprend à vue d'œil. Elle parait guérie le 19. Le 22 la fièvre se rallume; la sensibilité abdominale est extrême au moindre attouchement; les douleurs spontanées sont plus aiguës que jamais. Le visage est tiré; le pouls est à 100; la température à 38,7°. La situation s'aggrave le 23. Craignant une rupture du kyste j'envoie la malade à l'hôpital. J'expose la situation à Monsieur le Professeur Debaisieux et celui-ci décide d'intervenir immédiatement."

La veille de l'opération la température était le matin à 38,1° et le soir à 38,8°. Le jour de l'opération il y avait 38 le matin et 37,8° le soir. Le lendemain 37° le matin et 37,2° le soir. Depuis lors la température n'a plus dépassé 37°.

L'opération fut classique, nous a dit Monsieur le Professeur Debaisieux. Le kyste était gros comme une matrice à 9 mois. La poche kystique était constituée par une grande poche principale et par plusieurs

---

1) Archiv f. Gynäkol. 1899. p. 15.

petites poches accessoires. Elle ne ressemblait en rien aux kystes dermoïdes. Ce kyste renfermait 6 litres $\frac{1}{2}$ d'un liquide inodore, blanc crêmeux, tout-à-fait comme du pus. L'examen microscopique fut fait immédiatement: on ne trouva pas de bacilles; il n'y avait que quelques rares noyaux de globules blancs, des débris cellulaires et des gouttelettes de graisse.

Trois tubes d'agar non sucré ensemencés avec le liquide du kyste et portés à la couveuse présentaient tous trois, le lendemain, une abondante culture continue et blanche, absolument pure, de bâtonnets cylindriques, à extrêmités arrondies, isolés et quelquefois groupés deux par deux.

Réensemencés sur des agars sucrés ces bacilles ne produisirent pas de gaz.

Le lait ne fut pas coagulé par eux après six semaines de couveuse.

La recherche de l'indol dans les cultures de ce bacille, faites dans de l'eau additionnée de peptones Witte à $1^0/_0$, donna des résultats négatifs.

Les cultures sur pommes de terre restèrent complètement invisibles.

Sur gélatine se développèrent des colonies en forme de petits disques arrondis, transparents et légèrement jaunâtres.

Dans les préparations examinées à frais, les bâtonnets étaient animés de mouvements vifs.

Les caractères culturaux que l'on assigne au bacille typhique appartenaient donc au bacille du kyste. Il ne nous restait plus pour confirmer son identité, que de le soumettre à l'action d'un sérum agglutinant le bacille typhique.

Nous possédons à l'institut bactériologique de Louvain un sérum antityphique provenant d'un cheval fortement vacciné. Ce sérum, additionné de $\frac{1}{2}{}^0/_0$ d'acide phénique, a conservé depuis plusieurs années un pouvoir agglutinant considérable.

C'est d'abord avec ce sérum que nous avons fait des essais d'agglutination de notre bacille. Le résultat de ces essais apparait nettement dans le tableau ci-contre. Pour mieux faire ressortir la valeur de l'agglutination, nous n'avons pas seulement pris comme témoin un bacille typhique authentique qui nous vient du laboratoire de Widal, mais encore deux colibacilles d'origines différentes.

Agglutination du bacille du kyste comparée à celle d'un bacille typhique et de deux colibacilles.

Dilutions	Bacille typhique	Bacille du kyste	Colibacille A	Colibacille B
$\frac{1}{1000}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{5000}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{10000}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{20000}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{40000}$	+++	+++	—	—

Tandis que le bacille du kyste et le bacille typhique étaient agglutinés par les quantités infiniment petites de $\frac{1}{40000}$, et cela en très peu de temps et d'une façon très complète, les colibacilles aux mêmes dilutions ne présentaient pas trace d'agglutination. Pour mieux marquer encore la différence entre les colibacilles et les bacilles du kyste, nous avons recherché la limite d'inactivité de notre sérum sur les colibacilles, et nous sommes arrivés aux résultats suivants.

Essais d'agglutination de deux colibacilles par un sérum antityphique.

Dilutions	Colibacille A	Colibacille B
$\frac{1}{100}$	+	+
$\frac{1}{200}$	+	+
$\frac{1}{300}$	+	+
$\frac{1}{400}$	—	—
$\frac{1}{500}$	—	—

L'agglutination des colibacilles ne se faisait donc qu'au $\frac{1}{300}$; et encore faut-il faire remarquer que cette agglutination était incomplète. La partie supérieure des tubes à réaction était claire; mais plus de la moitié inférieure était troublée, et au fond du tube il n'y avait qu'un petit dépôt.

Ce résultat ne pouvait nous laisser aucun doute sur la nature du bacille du kyste qui devait bien être considéré comme un bacille typhique. Il nous a cependant paru intéressant de rechercher le pouvoir agglutinant du sang de la malade vis-à-vis du bacille d'Eberth, des colibacilles et de son propre bacille. Les résultats de ces recherches sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Agglutination du bacille d'Eberth, du bacille du kyste et des colibacilles A et B au moyen du sérum de la malade.

Dilutions	Bacille d'Eberth	Bacille du kyste	Colibacille A	Colibacille B
$\frac{1}{10}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{20}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{40}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{60}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{80}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{100}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{200}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{300}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{400}$	+++	+++	—	—
$\frac{1}{500}$	++	+++	—	—
$\frac{1}{600}$	++	++	—	—
$\frac{1}{700}$	+	++	—	—
$\frac{1}{800}$	—	+	—	—
$\frac{1}{900}$	—	—	—	—
$\frac{1}{1000}$	—	—	—	—

Ainsi donc le sérum de la malade ne présentait aucun pouvoir agglutinant vis-a-vis de deux formes de colibacilles, tandis que son pouvoir agglutinant vis-a-vis du bacille d'Eberth et du bacille du kyste était exceptionnellement intense. Si l'on songe que les infections colibacillaires développent chez les sujets infectés un pouvoir agglutinant notable, il apparaîtra à l'évidence que les bacilles du kyste ne pouvaient pas être des colibacilles.

Il résulte donc des caractères culturaux de notre bacille ainsi que des résultats des agglutinations auxquelles il a été soumis, que c'est bien un bacille typhique.

Il ne sera pas sans intérêt de revenir un instant à l'histoire de la maladie.

La convalescence de la fièvre typhoïde fut lente bien que la maladie ait été bénigne. Nous en trouvons l'explication dans la persistance des bacilles typhiques dans le kyste. L'infection du kyste s'était faite en effet pendant la maladie; et s'il fallait assigner une date à cette infection, il faudrait la faire coïncider avec l'époque où s'éveillèrent dans le kyste des douleurs violentes, où il devint plus volumineux et où la fièvre s'éleva nettement. Les bacilles d'Eberth trouvèrent dans le liquide kystique un milieu éminemment favorable à leur développement et durent se multiplier en grand nombre. Ainsi s'expliquent les phénomènes franchement inflammatoires que présenta le kyste pendant le cours de la maladie. L'effort de l'organisme vers la guérison parvint à détruire tous les bacilles typhiques qui circulaient dans le sang ou qui s'étaient arrêtés dans les organes où ils se rencontrent le plus habituellement, comme les follicules clos de l'intestin, les plaques de Peyer et la rate. Mais à cette lutte l'organisme avait dû dépenser une énorme quantité de phagocytes. Restaient encore l'énorme quantité de bacilles retranchés dans le kyste. L'organisme envoya là aussi ses forces défensives; mais l'armée leucocytaire ne fut pas assez nombreuse pour remporter un triomphe complet. Les bacilles furent détruits en grand nombre: l'apyrexie passagère que présenta la malade ne s'explique que par l'absence de déversement de toxines dans le sang, c'est-à-dire par la destruction presque complète donc des organismes éberthiens. Ce fut la période de convalescence et d'apparente guérison. Mais les bacilles n'avaient pas tous été détruits; et lorsque l'organisme eut épuisé ses ressources ils reprirent le dessus et l'auraient probablement conservé sans l'intervention opératoire. La fièvre s'était rallumée; la tension douloureuse du kyste annonçait le retour offensif des bacilles; tout cela fut coupé par le couteau du chirurgien. Le lendemain de l'opération la fièvre était presque totalement tombée et ne devait plus reparaître.

De la relation de ce cas nous paraissent découler plusieurs enseignements:

1° C'est un fait de plus en faveur de l'action pyogène du bacille d'Eberth.

2° C'est un remarquable exemple d'un sujet vacciné et chez lequel des bacilles subsistent cependant à l'état latent, capables de développer à un moment donné une infection locale. (Il n'est pas possible dans l'état actuel de nos connaissances sur l'immunité, d'interpréter ce fait bizarre qui se présente d'ailleurs encore pour d'autres bacilles et tout particulièrement pour celui de la tuberculose.)

3° Au point de vue clinique, ce cas montre qu'il faut porter toute son attention vers les lésions organiques préexistantes à la fièvre typhoïde et susceptibles de devenir, dans le cours de celle-ci, un retranchement pour les bacilles d'Eberth; et qu'enfin une intervention chirurgicale rapidement et sagement délibérée peut guérir radicalement ces fâcheuses complications.

Qu'il nous soit permis, en terminant, de témoigner à notre excellent maître, Monsieur le Professeur Denys, toute notre reconnaissance pour les conseils éclairés par lesquels il dirige nos travaux.

Nachdruck verboten.

Die Steigerung der Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus zu der des Rindertuberkelbacillus.

Von Dr. **D. A. de Jong** in Leiden.

Mit 3 Kurven und 9 Figuren.

(Schluß.)

In der Brusthöhle keine Flüssigkeit. Die Lungen sind nicht zusammengefallen. An der rechten Seite rückenwärts schwer zu zerreißende Adhäsionen. Links ist die ganze Lunge mittels Bindegewebe und Fibrin fest mit der Thoraxwandung verbunden.

Die Lungen sind stark vergrößert, zumal die rechte, und haben eine höckerige Oberfläche; sie zeigen viele Kavernen (Fig. 2). Die rechte hat noch eine ziemliche Respirationsoberfläche. Die linke ist, was den hinteren Lappen betrifft, ganz kavernös. Die vorderen Lappen zeigen eine käsige Pneumonie. Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind stark tuberkulös mit ziemlich viel Kalk. Die Trachea zeigt in der Länge der ganzen Schleimhaut eine Menge tuberkulöser Geschwüre. In der Larynx befand sich unter der Schleimhaut des linken Gießkannenknorpels ein kleiner Tuberkel.

In der schaumigen Flüssigkeit der Maulhöhle (Lungenödem), in der rechten Bugdrüse, in dem Absceß an der Impfstelle und in den Lungen wurden Tuberkelbacillen gefunden.

Ein Meerschweinchen mit einem Gewicht von 559 g wurde von der rechten Bugdrüse subkutan geimpft. Tod nach 86 Tagen mit einem Gewichtsverlust von 44 g an heftiger allgemeiner Impfungstuberkulose.

Die mikroskopische Untersuchung der Lunge, vorderen Mediastinaldrüse, rechten retropharyngealen Drüse und Schleimhaut der Trachea der Ziege ließ starke tuberkulöse Veränderungen erkennen. In Lungen und Mediastinaldrüse waren verkäste und verkalkte Herde nebeneinander anwesend.

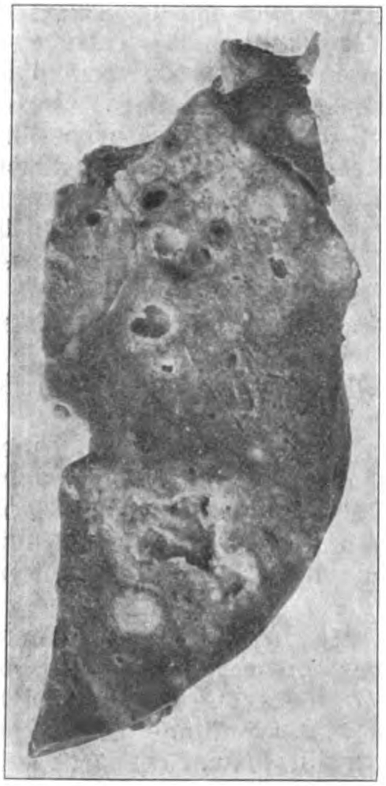


Fig. 2. Schnittfläche des hinteren Lappens der rechten Lunge derselben Ziege. $^{9}/_{20}$ Größe.

Der Verlauf dieses Versuches hatte also eine erstaunliche Uebereinstimmung mit dem von Nocard, welchen ich immer etwas bezweifelt hatte. Damals starb das Tier auch erst nach 3 Jahren.

Auffallend ist weiter, daß unsere Ziege eine doppelte Infektion zeigte, nämlich eine subkutane, verursacht durch Bacillen, welche bei der

Einspritzung unter die Haut gelangt waren, und wodurch auch die rechte Bugdrüse angesteckt wurde, und eine pulmonäre als Folge der intravenösen Injektion.

Vergleicht man weiter das Resultat des erwähnten Versuches mit den von mir bei Ziegen mit anderen vom Menschen herrührenden Tuberkelbacillen erhaltenen (3), und zieht man dabei die geringgradige Tuberkulose, welche der verwendete Bacillus bei Rindern verursachte, in Betracht, dann muß sicher angenommen werden, daß dieser Tuberkelbacillus des Menschen eine äußerst geringe Virulenz besaß.

Nun war es aber interessant zu untersuchen, ob der dreijährige Aufenthalt in dem Ziegenkörper vielleicht seine Eigenschaften abgeändert hatte.

Zu diesem Zwecke wurden Kulturen angelegt aus dem Meerschweinchen, welches nach Impfung mit Material aus der Bugdrüse an Tuberkulose gestorben war. Diese Kulturen, angelegt auf glycerinhaltigem Rinderblutserum, zeigten bald Wachstum, und mit diesen Kulturen wurden am 16. Januar 1904 neue Impfungen angestellt, welche den Anfang einer doppelten Serie von Versuchen bildeten.

Von den aus dem Meerschweinchen erhaltenen Kulturen wurde eine fein zerteilte Suspension gemacht, welche 0,150 g Bacillen auf 20 ccm sterilem Wasser enthielt, also weniger stark war als die, welche von Koch und Schütz in der Regel verwendet wurde. Eine Ziege mit einem Gewicht von 13 kg, welche auf Tuberkulin nicht reagiert hatte, erhielt davon 1,5 ccm an der rechten Halsfläche subkutan. Das Tier starb nach 34 Tagen an heftiger allgemeiner Impfungstuberkulose mit einem Gewichtsverlust von 6 kg. Der Bacillus hatte also für die Ziege stark an Virulenz zugenommen.

Am 20. Januar war die Impfstelle angeschwollen, und diese Anschwellung wurde langsam größer. Am 25. Januar folgte Vergrößerung der regionären Bugdrüse, am 28. stieg die Temperatur, welche nachher ein wenig wechselte, um nach dem 4. Februar über 40° C zu steigen, und erst 2 Tage vor dem Tode wieder herabzusinken. Am 5. Februar fing das Tier an zu husten, nach dem 6. verlor es an Gewicht. Der Zustand verschlimmerte sich dann immer mehr, und die Ziege starb am 19. Februar. Die Anschwellung der Impfstelle und der Bugdrüse hatten fortwährend an Umfang zugenommen.

Obduktion: Hühnereigroße Geschwulst an der Impfstelle (Fig. 3) mittels eines Stranges mit der stark vergrößerten Bugdrüse, welche $2^{1}/_{2}$ cm breit, $5^{1}/_{2}$ cm lang und 2 cm dick war (Fig. 4), verbunden. Tuberkulose der rechten Submaxillardrüse, der rechten retropharyngealen Drüse, der rechten unteren Halsdrüse, der Leistendrüsen, der rechten Kniekehldrüse, der Mesenterialdrüsen, der portalen

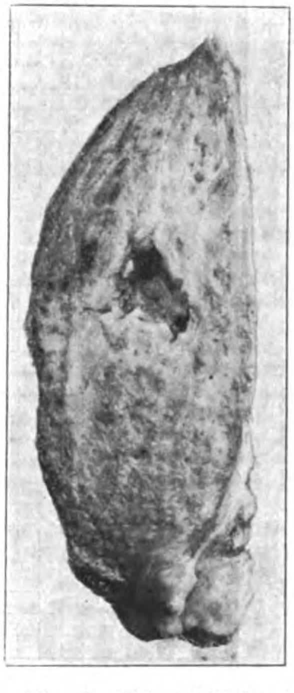
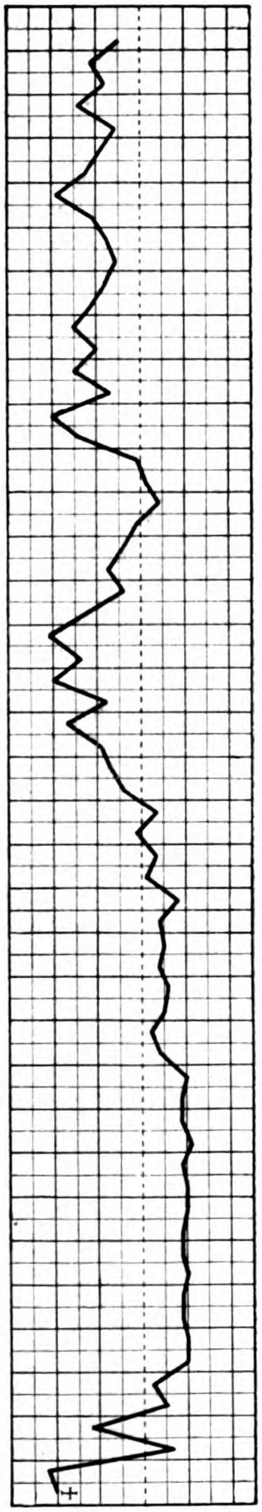


Fig. 3. Schnittfläche der tuberkulösen Anschwellung an der Halsfläche der am 19. Februar 1904 verstorbenen Ziege. $^{9}/_{10}$ Größe.



Kurve 1.

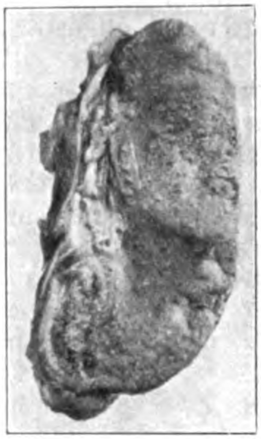


Fig. 4.

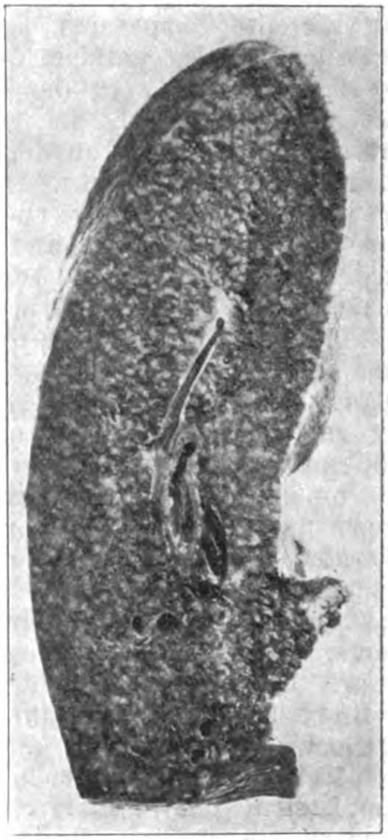


Fig. 5.

Fig. 4. Schnittfläche der rechten Bugdrüse derselben Ziege. 9/10 Größe.
Fig. 5. Schnittfläche eines Lungenlappens derselben Ziege. 9/10 Größe.

Drüsen, der Leber, der Milz und der Nieren; heftige Miliartuberkulose der Lungen (Fig. 5) und der Bronchial- und Mediastinaldrüsen.

Das Temperaturverhältnis zeigt die Kurve No. 1.

Zu jener Zeit (am 19. Februar) war ich nicht im Besitz eines besonders dazu geeigneten Kalbes zur direkten Impfung mit den Organen der Ziege. Ich mußte mich zufriedenstellen mit einem übrigens ausgezeichneten und sehr gesunden Kalbe von 2 Tagen (nüchternes Kalb), mit einem Gewichte von 32 kg.

Von einer mediastinalen Drüse der Ziege wurde ein Teil mit sterilem Wasser so fein wie möglich verrieben. In der in dieser Weise erhaltenen Flüssigkeit waren viele Tuberkelbacillen anwesend. Davon bekam das Kalb 5 ccm subkutan an der rechten Halsseite und nebenbei wurde ein Meerschweinchen von 380 g subkutan mit 1 ccm derselben Flüssigkeit geimpft. Die Impfungen fanden am 19. Februar 1904 statt. Das Meerschweinchen starb am 21. März an allgemeiner Impfungstuberkulose, im Gewicht zurückgegangen bis 282 g.

Das Kalb zeigte alsbald eine ziemlich große Anschwellung an der Impfstelle und von der linken Bugdrüse, welche beiden Anschwellungen durch einen schmerzhaften Lymphstrang verbunden waren. Nach einigen Tagen jedoch wurde der Versuch gestört, indem das Tier Diarrhöe bekam und an Kälberdiphtheritis erkrankte. Der Tod ließ nicht lange auf sich warten und das Tier verendete am 9. März. Die Obduktion zeigte ein interessantes Bild der Mischinfektion mit Tuberkel- und Nekrosebacillen. Von rein tuberkulöser Natur war die Anschwellung an der Impfstelle, eine tuberkulöse Infiltration des subkutanen Gewebes, worin sich sehr viele Bacillen befanden. Die rechte retropharyngeale Lymphdrüse war nahezu gänzlich verkäst, enthielt viele Tuberkelbacillen, aber auch einige Nekrosebacillen. Die rechte Bugdrüse, welche stark vergrößert war, enthielt einen großen käsigen Herd mit vielen Tuberkel-, jedoch keinen Nekrosebacillen. Tuberkulös waren weiter die Darmbeindrüsen, die Nierendrüsen, die Nieren, die Leber, die Milz und die Mesenterialdrüsen. In den Lungen viele Tuberkel, aber daneben eine große Zahl von durch Nekrosebacillen verursachten Herden; die bronchialen und mediastinalen Drüsen waren tuberkulös.

Es war klar, daß faktisch die Infektion durch Nekrosebacillen stärker war als die durch Tuberkelbacillen. Für die Kenntnis der Infektion durch Tuberkelbacillen hatte der Versuch also keinen Wert. Aber die Bacillen hatten während 19 Tage in dem Körper des Kalbes verweilt.

Geimpft wurden 1 Meerschweinchen von 548 g mit Material von der rechten retropharyngealen Drüse und ein zweites von 601 g mit solchem der rechten Bugdrüse, beide subkutan. Das erste starb nach 83, das zweite nach 46 Tagen an allgemeiner Impfungstuberkulose. Aus den Organen des zweiten wurden Kulturen angelegt; diese waren nach etwa 4 Wochen üppig gewachsen.

Diese Kulturen sollten dazu dienen, aufs neue ein Kalb zu impfen und zu sehen, ob die Virulenz eine derartige war, daß bei dem Kalbe eine progressive Impfungstuberkulose zum Vorschein gerufen werden konnte. Und ich wollte dabei genau den Weg befolgen, welchen Kossel und seine Mitarbeiter bei ihren neuen Untersuchungen am Gesundheitsamt (1) eingeschlagen haben.

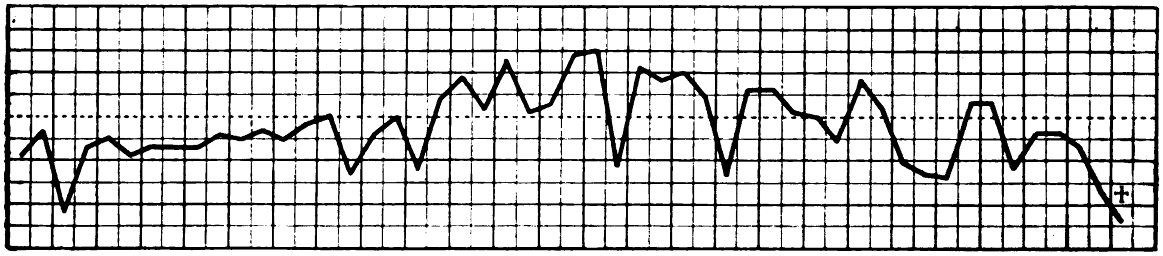
Es mußte also ein Kalb von 3—6 Monaten genommen werden. Am 9. Juli 1904, dem Tage der Impfung, verfügten wir über ein Kalb, welches am 12. März geboren, und also gut 3 Monate alt war. Am

13. Juni hatte es auf eine Tuberkulineinspritzung nicht reagiert. Das Tier war munter und lebhaft, und wog 89,5 kg.

Von einer Kultur aus der Milz des obengenannten Meerschweinchens wurden 35 mg abgewogen und mit 5 ccm sterilem Wasser verrieben; diese Flüssigkeit wurde subkutan an der rechten Halsseite des Kalbes eingespritzt.

Ich hebe hervor 1) daß der verwendete Bacillus derselbe war, welcher ursprünglich im Laboratorium von Prof. Spronck aus einem Menschen isoliert worden wor, und welcher keine genügende Virulenz hatte, um zwei Rinder nach intravenöser Infektion zu töten; welcher $3^1/_2$ Jahr brauchte, um nach intravenöser Infektion einer Ziege dieselbe zu töten, und welcher nachher successive den Körper eines Meerschweinchens, einer Ziege, eines Kalbes und eines Meerschweinchens passiert hatte; 2) daß jetzt weniger Bacillen einverleibt wurden als bei den Kosselschen Versuchen.

Das Resultat des Versuches ließ an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig. Das Kalb starb am 3. August, also nach 25 Tagen, an allgemeiner Impfungstuberkulose, sowohl während des Versuches als bei der Obduktion die Erscheinungen zeigend, welche nach Koch und Schütz und ihren Nachfolgern nur von Rinderbacillen verursacht werden können.



Kurve 2.

Schon am 11. Juli war die Impfstelle angeschwollen, und diese Anschwellung hatte am 16. beträchtlich zugenommen. Dann hatte sich auch die rechte Bugdrüse vergrößert; und beide Schwellungen nahmen fortwährend an Umfang zu.

Am Abend der Infektion stieg die Temperatur bis 39,7 ° C, sank danach wieder herab, stieg am 17. Juli bis 40 ° C und blieb nun fortwährend sehr hoch, um einige Tage vor dem Tode wieder zu sinken. Der Fieberzustand ist aus der Kurve No. 2 ersichtlich. Nach dem 23. Juli fing das Tier an abzumagern; beim Tode war das Gewicht 72,5 kg. Am 27. Juli wurde Husten wahrgenommen und es entwickelte sich eine schwere tuberkulöse Pneumonie. Während der letzten Tage war das Kalb so schwach, daß es sich nicht ohne Hilfe erheben konnte.

Die Obduktion ergab folgendes:

Fast alle Lymphdrüsen, sowohl oberflächliche als tiefe, sind tuberkulös. An der Impfstelle subkutan eine ausgebreitete tuberkulöse, ziemlich feste, käsige Anschwellung, 25 cm lang, 12 cm breit und 7 cm dick (Fig. 6). Die rechte Bugdrüse stark vergrößert, 10 cm lang, 5 cm breit und dick, aus festem, verkästem Gewebe bestehend (Fig. 7). In Leber (Fig. 8), Milz und Nieren eine große Zahl von kleinen Tuberkeln. Die Lungen von Miliartuberkeln übersät (Fig. 9); die dazugehörigen Lymphdrüsen, zumal rechts, in eine feste käsige Masse umgewandelt. An dem Rippenbrustfell eine beginnende Perlsucht.

Nach der Kochschen Auffassung war das Tier an einer Infektion mit Rinderbacillen gestorben, und doch hatte die Infektion stattgefunden mit einem Menschenbacillus, welcher ursprünglich ein 2-jähriges Rind und ein $2^1/_2$ Monate altes Kalb auch nach intravenöser Infektion nicht töten konnte.

Die Virulenz hatte also nach der Tierpassage zugenommen. Das war schon ersichtlich gewesen aus der Infektion der zweiten Ziege, welche gleichfalls nach der subkutanen Impfung in kurzer Zeit gestorben war.

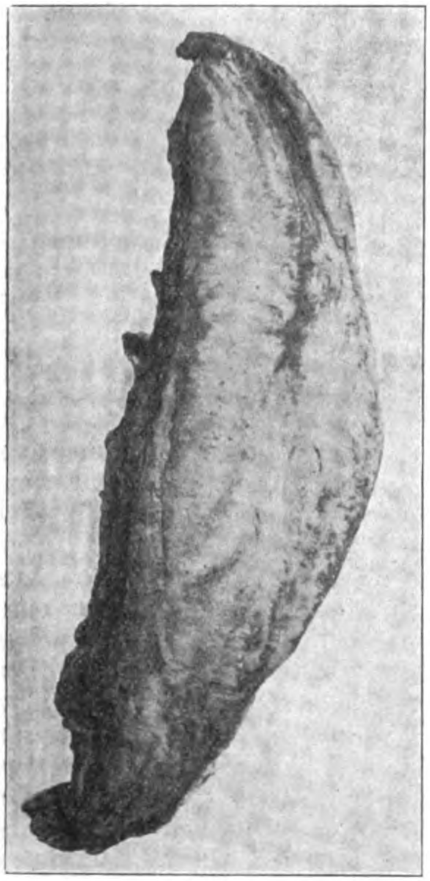


Fig. 6.

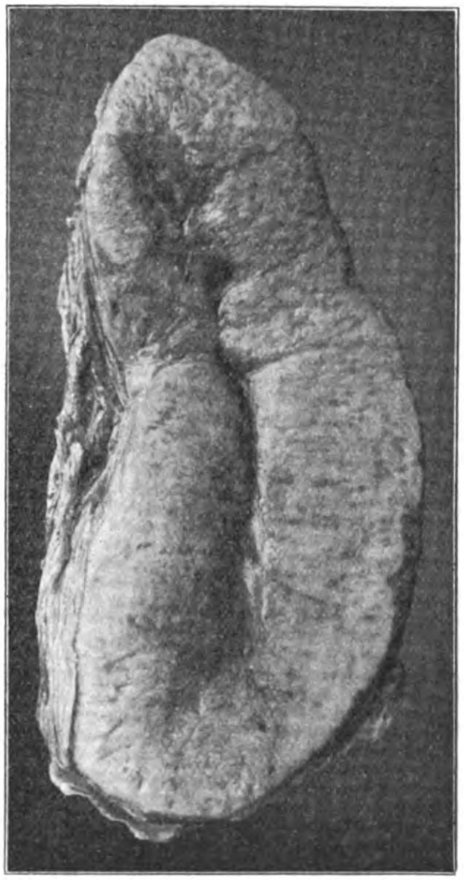


Fig. 7.

Fig. 6. Schnittfläche der Anschwellung an der Impfstelle des am 3. August 1904 verendeten Kalbes. $^9/_{10}$ Größe.
Fig. 7. Rechte Bugdrüse desselben Kalbes. $^9/_{10}$ Größe.

Man könnte behaupten, daß wir zufällig mit wenig resistenten Tieren gearbeitet hätten. Dieses wird durch die zweite zu erwähnende Versuchsreihe widerlegt.

Eine Uebersicht der stattgefundenen Virulenzsteigerung gibt folgendes Schema (s. p. 260).

Die Virulenz des Rindertuberkelbacillus wurde also vom Menschenbacillus erreicht nach Passage durch zwei Ziegen und ein Kalb, überdies hatte das Virus noch zwei Meerschweinchen passiert.

Bacillus tuberculosis hominis
Reinkultur aus Niere
womit geimpft:

2-jähriges Rind intravenös: 8. Mai 1900, stirbt nicht; bekommt geringe Tuberkulose mit Neigung zur Heilung.

Ziege
intravenös: 3. April 1900
tot: 26. August 1903

$2^1/_2$ Monate altes Kalb intravenös: 8. Mai 1900, stirbt nicht; leichte Tuberkulose mit Neigung zur Heilung.

|
mit rechter Bugdrüse geimpft:
Meerschweinchen (tot 21. Nov. 1903. Kulturen)
|
mit Kultur Meerschweinchen geimpft:
Ziege
subkutan: 16. Januar 1904
tot: 19. Februar 1904
|
mit Mediastinaldrüse geimpft:
Kalb
subkutan: 19 Februar 1904
tot: 9. März 1904 (Mischinfektion von Nekrose- und Tuberkelbacillen)
|
mit rechter Bugdrüse geimpft:
Meerschweinchen (tot 24. April 1904. Kulturen)
|
mit Kultur Meerschweinchen geimpft:
Kalb
|
subkutan: 9. Juli 1904
tot: 3. August 1904 (allgemeine Impftuberkulose).

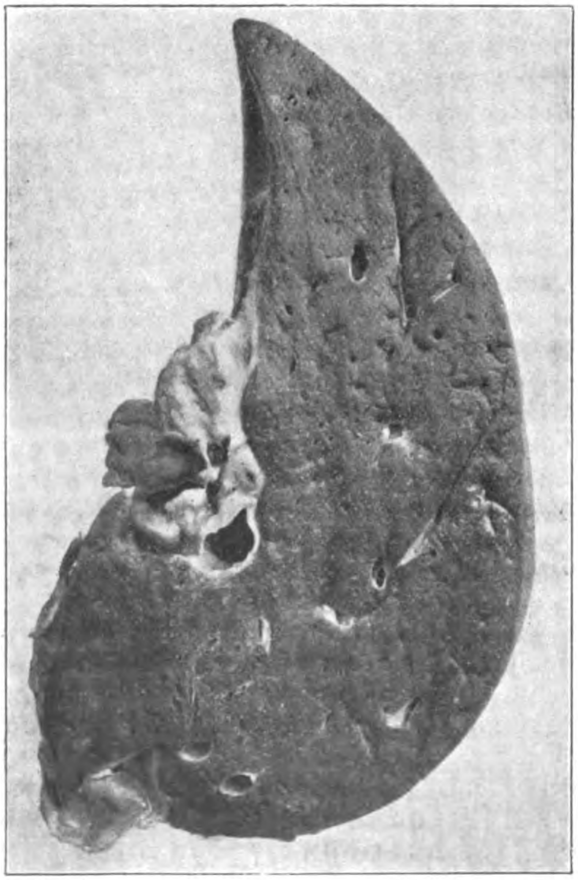


Fig. 8. **Leberschnittfläche desselben Kalbes.** $^{11}/_{16}$ **Größe.**

Die zweite Serie von Versuchen hat nicht weniger deutliche Resultate ergeben als die erste.

Wieder wurde Ausgang genommen von einer Kultur, welche wir gezüchtet hatten aus einem Meerschweinchen, welches aus der Bugdrüse der am 26. August 1903 gestorbenen Ziege geimpft worden war. Diese Ziege war also dieselbe, welche nach intravenöser Impfung mit einem menschlichen Tuberkelbacillus noch $3^1/_2$ Jahre gelebt hatte.

Zur Impfung mit der genannten Kultur war disponibel ein Kalb von 163 kg, welches nach einer Einspritzung von 3 ccm Tuberculine diluée nicht reagiert hatte. Am 16. Januar 1904, d. h. am selben

Tage, worauf die Ziege der ersten Serie geimpft wurde, erhielt das Kalb 10 ccm der auch für die Ziege verwendeten Injektionsflüssigkeit subkutan an der rechten Halsfläche. In den 10 ccm waren also 7,5 cg Tuberkelbacillen suspendiert.

Am 18. Januar Schwellung der Impfstelle, am 20. der Bugdrüse, welche Anschwellungen immer größer wurden bis zum 26. Januar, um dann etwas zurückzugehen. Die Temperaturen waren nur wenig erhöht, blieben unter 40° C. Nach dem 6. März fing das Tier an, etwas dürr auszusehen. Das Gewicht blieb ziemlich stationär, verminderte sich etwas nach dem 16. März. Am 6. April wurde tuberkuliniert mit folgendem Resultat (s. p. 262).

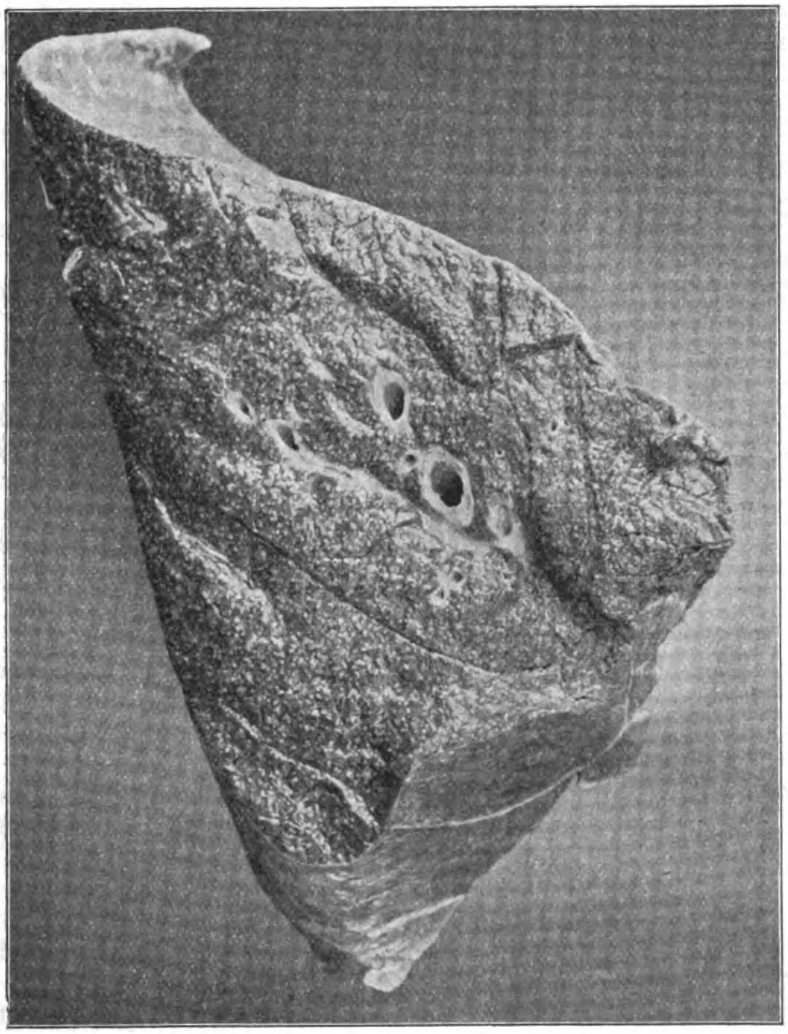


Fig. 9. Lungenschnittfläche desselben Kalbes. $^{11}/_{16}$ Größe.

Die Reaktion betrug 2,3° C und war auch organisch.

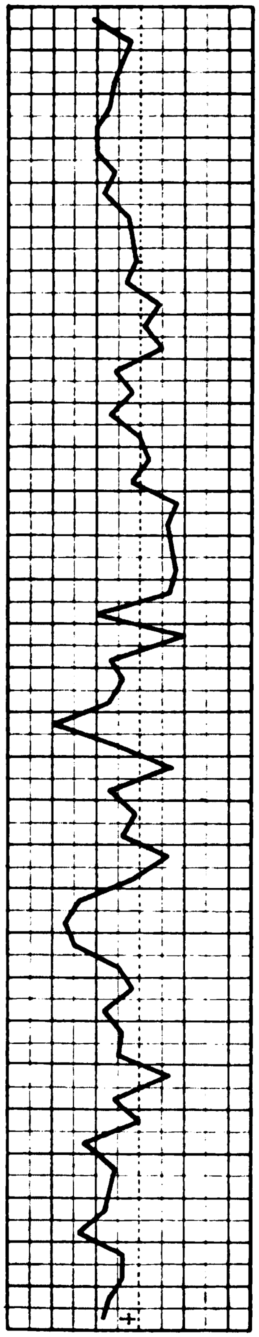
Die Schwellungen an der Impfstelle und der Bugdrüse blieben bestehen. Am 13. Mai, also 116 Tage nach der Impfung, wurde das Tier getötet. Die Obduktion ergab das folgende:

An der Impfstelle an der rechten Halsseite ein großer tuberkulöser Absceß mit rahmigem Eiter, worin sich viele Bacillen befinden. In der

5. IV.	5. IV.	6. IV.	6. IV.	7. IV.	7. IV.	7. IV.	7. IV.	7. IV.	7. IV.
Vorm.	Abds.	Vorm.	Abds.	Vorm.	Vorm.	Vorm.	Vorm.	Abds.	Abds.
7	9	7	7 (Infektion)	5	7	9	11	1	3
38,15	37,9	38	**39,1**	40,4	41,4	**41,4**	41,2	41	40,5

7. IV.	7. IV.	8. IV.	8. IV.
Abds.	Abds.	Vorm.	Abds.
5	7	7	9
40,6	40,1	39,5	38,5

rechten unteren Halsdrüse eine ziemlich große Zahl von Tuberkeln, wovon einige verkalkt sind. Bacillen wurden gefunden. Die rechte Bugdrüse stark vergrößert, mit vielen tuberkulösen Herden, wovon einige verkalkt sind. In der vorderen Mediastinaldrüse zwei Tuberkel, in der hinteren 10 kleine Tuberkel. In beiden Drüsen wurden Bacillen gefunden. Die Herde in den vorerwähnten Drüsen waren jünger als die in Halsund Bugdrüse. In den Lungen und den bronchialen Drüsen wurde nichts gefunden, und auch in anderen Organen wurde keine Tuberkulose entdeckt.



Kurve 3.

Die Impfung hatte also eine progressive Tuberkulose erzeugt, denn selbst die mediastinalen Drüsen waren infiziert. Von spontaner Erkrankung kann hier nicht die Rede sein. Der Zusammenhang zwischen Impfstelle, unterer Halsdrüse und Bugdrüse, alles rechts, war deutlich. Eine heftige Tuberkulose war jedoch nicht entstanden.

Man kann hier fragen: Welche Infektion nehmen hier Koch und Schütz an, eine mit Menschen- oder eine mit Rinderbacillen?

Für die Weiterzüchtung der verwendeten Bacillen konnte natürlich nur die Bugdrüse in Betracht kommen. Aus dieser Drüse wurden direkt Kulturen auf glycerinhaltigem Rinderserum angelegt. Ueberdies wurde damit ein Meerschweinchen von 247 g geimpft. Dieses junge Tier starb erst nach 120 Tagen, und doch haben die Kulturen aus der Bugdrüse ein Kalb in kurzer Zeit getötet. Ich mache auf diesen Unterschied aufmerksam.

Nach 4 Wochen waren die Kulturen aus der Drüse deutlich und am 9. Juli üppig gewachsen.

Es wurde ein Kalb genommen, welches am 10. März geboren war und also am 9. Juli ein Alter von 121 Tagen hatte. Das Gewicht betrug 8,75 kg. Am 3. Juni hatte es auf Tuberkulineinspritzung keine Spur von Reaktion gezeigt. Von einer Kultur der Bugdrüse wurden 35 mg abgewogen und gemischt mit 5 ccm sterilem Wasser. Diese Flüssigkeit wurde am 9. Juli subkutan an der rechten Halsseite eingespritzt. Die Menge war also wieder geringer als die, welche Kossel u. a. angaben.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Ueber den Verlauf des Versuches kann ich mich kurz fassen, weil er vollkommen übereinstimmt mit dem des letzten Kalbes in der anderen Serie.

Am 11. Juli Anschwellung an der Impfstelle, welche immer größer wurde. Am 16. Anschwellung der rechten Bugdrüse. Am 18. wurde Husten gehört. Schon am 15. stieg die Temperatur über 40° (vergl. die Kurve No. 3). Nach dem 23. fing das Tier an abzumagern. Der Zustand verschlimmerte sich fortwährend, und am 8. August trat der Tod ein, also 30 Tage nach der Impfung. Das Gewicht war bis 72,5 kg zurückgegangen.

Die Obduktion ergab nahezu dieselben Veränderungen wie bei dem am 3. August verendeten Kalbe, so daß eine nähere Umschreibung überflüssig ist. Die Abmessungen der Anschwellung an der Impfstelle betrugen: Länge 19, Breite 18 und Dicke 6 cm; in der Mitte befand sich eine gelblich feste Masse. Die rechte Bugdrüse war 13 cm lang, 6 cm breit und 6 cm dick, nahezu gänzlich verkäst. Die meisten Lymphdrüsen waren tuberkulös, sowie Leber, Milz und Niere, während die Lungen wieder eine schöne Miliartuberkulose zeigten. An der rechten Pleura costalis eine beginnende Perlsucht. (Man vergl. mit den Abbildungen der Organe des letzten Kalbes aus der anderen Serie.)

Also dasselbe Resultat wie bei dem anderen am 9. Juli geimpften Kalbe; die subkutan eingespritzten Bacillen hatten eine Wirkung gehabt welche nach der Kochschen Schule nur einem Rinderbacillus zukommt. Und doch waren es ursprünglich sehr wenig virulente Menschenbacillen.

Folgendes Schema veranschaulicht die Virulenzsteigerung:

Bacillus tuberculosis hominis
Reinkultur aus Niere
womit geimpft:

2-jähr. Rind intravenös: 8. Mai 1900, stirbt nicht; bekommt geringe Tuberkulose mit Neigung zur Heilung.	**Ziege** intravenös: 3. April 1900 tot: 26. August 1904	2½ Mon. altes Kalb intravenös: 8. Mai 1900, stirbt nicht; bekommt leichte Tuberkulose mit Neigung zur Heilung.

|
mit rechter Bugdrüse geimpft:
Meerschweinchen (tot 21. Nov. 1903. Kulturen).
|
mit Kultur Meerschweinchen geimpft:
Kalb
subkutan: 16. Januar 1904
getötet: 13. Mai 1904 (progressive langs. verl. Tuberkulose; Kulturen aus r. Bugdrüse)
|
mit Kultur Bugdrüse geimpft:
Kalb
subkutan: 9. Juli 1904
tot: 8. August 1904 (allgemeine Impftuberkulose).

Der Menschenbacillus hatte also den Körper einer Ziege und eines Kalbes und überdies eines Meerschweinchens passiert.

Wie bereits gesagt, widerlegt die zweite Versuchsreihe die eventuelle Behauptung, daß das letzte Kalb der ersten Reihe eine geringe individuelle Resistenz gehabt haben sollte. In zwei verschiedenen Fällen haben die ursprünglich wenig virulenten Menschenbacillen für das Kalb eine dem Rinderbacillus ähnliche Virulenz gezeigt. Und bei diesen Kälberversuchen haben wir die am Gesundheitsamt von Kossel u. a. befolgten Versuchsverfahren berücksichtigt.

Aus den erwähnten Untersuchungen glaube ich aufs neue folgern zu können, daß kein prinzipieller, kein Artunterschied zwischen Tuberkel-

bacillen des Menschen und des Rindes existiert, daß also die neue Meinung der Kochschen Schule unrichtig ist. Ein schwach virulenter Menschenbacillus läßt sich mittels Tierpassage steigern zu der Virulenz, welche der Rinderbacillus in der Regel besitzt.

Leiden, den 21. September 1904.

Literatur.

1) **Kossel, Weber** und **Heuss**, Vergleichende Untersuchungen über Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft. I. (Tuberkulose-Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Berlin 1904.)
2) **de Jong**, D. A., Expériences comparatives sur l'action pathogène pour les animaux, notamments pour ceux de l'espèce bovine, des bacilles tuberculeux provenant du boeuf et de l'homme. (Semaine médicale. 1902. 15 janvier.)
3) — —, De Eenheid der Zoogdiertuberculose. Leiden 1902.
4) **Stuurman**, W., Zur Identität der Menschen- und Rindertuberkulose. Leiden 1903.
5) **de Jong**, D. A., La tuberculose humaine et celle des animaux domestiques sont-elles dues à la même espèce microbienne: le bacille de Koch? (XIIIe Congrès international d'hygiène et de démographie. Bruxelles 1903.)
6) **Ravenel, Mazyck** P., The intercommunicability of human and bovine tuberculosis. 1902.
7) v. **Behring**, Beiträge zur experimentellen Therapie. Heft 5.
8) **Moeller**, Zur Frage der Uebertragbarkeit der Menschentuberkulose auf Rinder und Ziegen. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 40. p. 718.)
9) **Römer**, Tuberkelbacillenstämme. (v. **Behrings** Beiträge zur experimentellen Therapie. Heft 6.)
10) **Gratia**, La tuberculose humaine et celle des animaux domestiques sont-elles dues à la même espèce microbienne: le bacille de Koch? (XIIIe Congrès international d'hygiène et de démographie. Bruxelles 1903.)
11) **Arloing**, XIIIe Congrès international d'hygiène et de démographie. Bruxelles 1903.
12) **Karlinski**, Zur Frage der Uebertragbarkeit des menschlichen Tuberkuloseerregers auf Tiere. (Zeitschr. f. Tiermedizin. Bd. VIII. Heft 6.)

Nachdruck verboten.

Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Prof. Weichselbaum) in Wien.]

Von Assistent Dr. **Julius Bartel** und Dr. **Robert Stein**.

(Fortsetzung.)

Histologischer Befund:

1) Leberherde: Dieselben zeigen in den zentralen Partieen Leberzellenbalken, die vielfach in Auflösung begriffene Leberzellen aufweisen, die gegenüber den Leberzellen der Umgebung einen mehr hellroten Farbenton im Hämalauneosinschnitt aufweisen. Die Kerne sind vielfach undeutlich, vielfach weisen sie keine spezifische Kernfärbung mehr auf. Zwischen den Leberzellen liegen dicht gehäuft mono- und polynukleäre Leukocyten. Diese zentralen Partieen erscheinen von einer Kapsel umgeben, scharf von der umgebenden Leber abgegrenzt. Diese Kapsel ist gebildet aus spindeligen Zellen mit kurzspindeligem Kern und enthält stellenweise reichlich mononukleäre Leukocyten.

In Schnitten konnten keine Tuberkelbacillen nachgewiesen werden.

2) Lymphdrüse: In derselben finden sich zahlreiche Herde, die zentral zumeist dichte Anhäufungen mono- und polynukleärer Leukocyten zeigen, peripher gleich den Leberherden kapselartig durch eine Zone anscheinend fibrösen Gewebes von der Umgebung abgegrenzt sind. Die Zellen der letztgenannten Grenzzone sind spindelig mit spindeligem Kern. Neben einzelnen mononukleären Leukocyten liegen in dieser Zone auch einzelne Riesenzellen, deren Kerne teils peripher, teils mehr gleichmäßig im Protoplasma verteilt angeordnet sind.

Tuberkelbacillen fanden sich nicht.

2. Probe, entnommen nach 22 Stunden (29. April 1904, 9 Uhr Morgens).

1) Deckglas: Segmentierte, deutlich rot gefärbte Bacillen einzeln und zu zweien in mäßiger Zahl, einzelne Bacillen unsegmentiert.

2) Histologischer Befund: analog fr. Probe. Keine Bacillen gefunden.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 34. Tag (1. Juni 1904): Am 13. Mai 1904 machte sich ein kleines Infiltrat der Injektionsstelle bemerkbar.

Sektionsbefund: Käsiges Infiltrat der Injektionsstelle, verkäste, fast erbsengroße, inguinale Lymphdrüsen der rechten Seite, desgleichen eine verkäste, vergrößerte Drüse rechts am Musc. psoas, Milz vergrößert, gleichmäßig von über hirsekorngroßen Knötchen durchsetzt, in der Leber spärliche kleinste Knötchen, braune Atrophie der inneren Organe, Marasmus.

Histologischer Befund (durch den etwas faulen Zustand der Organe wurde hier die Untersuchung einigermaßen erschwert):

Leberknötchen: Dieselben, etwa $^1/_{10}$ der Größe der Leberherde in Probe 1 dieser Reihe, erwiesen sich als kleine Herde nekrotischen Gewebes, das eine mäßige Zahl erhaltener Kerne sowie Kerntrümmer enthält. Eine Art fibröser Kapsel ist hier nicht vorhanden.

Tuberkelbacillen konnten in diesen Herden nicht nachgewiesen werden.

Die Milzknötchen zeigen ebenfalls ein nekrotisches Zentrum mit in mäßiger Zahl eingestreuten Kernen und Kerntrümmern, in den Randpartieen oft eine breitere Zone von mono- und polynukleären Leukocyten und auch eine mäßige Zahl oft ziemlich großer Riesenzellen mit zumeist randständig angeordneten Kernen.

Tuberkelbacillen fanden sich hier in sehr spärlicher Zahl als zumeist blaßrot gefärbte, stark pigmentierte Stäbchen.

3. Probe, entnommen am 4. Tag (1. Mai 1904).

1) Deckglas: negativ.

2) Histologischer Befund: An einer Stelle 2 segmentierte, deutlich rot gefärbte Bacillen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 30. Tag (30. Mai 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. An der Injektionsstelle kleines flaches Infiltrat, von denselben nach abwärts sich erstreckend verkäste bis erbsengroße Lymphdrüsen, braune Atrophie der inneren Organe, Marasmus.

Histologischer Befund: Das Infiltrat zeigt hier lediglich eine Anhäufung polynukleärer Leukocyten nach Art eines Abscesses.

Tuberkelbacillen fanden sich in denselben sehr spärlich in Form schwach rot gefärbter, stark segmentierter Stäbchen, die stets einzeln lagen.

In den Lymphdrüsen zeigen die Herde zentral zwischen nekrotischen Partieen dichte Anhäufungen polynukleärer Leukocyten, während peripher ein breiter Saum protoplasmareicher Zellen mit meist einem, seltener 2 und 3 bläschenförmigen Kernen zu sehen ist.

Tuberkelbacillen sind in diesen Herden von gleicher Art und Zahl wie im Infiltrat.

4. Probe, entnommen am 6. Tag (3. Mai 1904).

1) Deckglas: 2 segmentierte, gut gefärbte Bacillen.

2) Histologischer Befund: An 2 Stellen mehrere teilweise segmentierte, gut gefärbte Bacillen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 60. Tag (2. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Tier kräftig ohne Veränderungen.

5. Probe, entnommen am 12. Tag (9. Mai 1904).

1) Deckglas: Mehrfach bald deutlich, bald blaßrot gefärbte, zum Teil segmentierte Bacillen einzeln und zu zweien.

2) Histologischer Befund: An zwei Stellen deutlich rot gefärbte, segmentierte Bacillen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 20. Tag (29. Mai 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Kleines bröckliges Infiltrat an der Injektionsstelle, kleiner rundlicher Herd in der Leber, Marasmus, braune Atrophie der Organe.

Histologischer Befund: Das Infiltrat zeigt in gleichförmig nekrotisiertes Gewebe eingelagerte mononukleäre, seltener polynukleäre Leukocyten in mäßiger Zahl. Hier und da ist eine protoplasmareiche Zelle mit 2 Kernen zu sehen. An einzelnen rundlichen Stellen ist das Gewebe im Hämalauneosinschnitt stärker rot gefärbt, und enthält dann auch zahlreiche Kerntrümmer.

Tuberkelbacillen fanden sich in diesem Infiltrate außerordentlich spärlich (1 Bacillus von mehr bräunlich-roter Farbe).

Der Leberherd besteht aus protoplasmareichen Zellen, darunter mäßig reichliche Zellen mit 2 und mehreren in dem Zellprotoplasma gleichmäßig verteilten Kernen. An einer kleinen zirkumskripten Stelle sind in nekrotisches Gewebe polynukleäre Leukocyten und Kerntrümmer eingelagert.

Tuberkelbacillen fanden sich in diesem Leberherd nicht.

6. Probe, entnommen am 16. Tag (13. Mai 1904).

1) Deckglas: Keine Bacillen gefunden.
2) Histologischer Befund: An einer Stelle 2 segmentierte, gut gefärbte Bacillen.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch 50. Tag (2. Juli 1904).
Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Keine Veränderungen.
Sämtliche Impftiere dieser Reihe waren ca. 3 Wochen alt.

II. Reihe.

Tuberkelbacillen waren in der frischen Probe als sehr spärliche segmentierte Stäbchen von deutlicher Rotfärbung in den tuberkulösen Herden nachweisbar. Die Bacillen lagen zumeist einzeln. In den späteren Proben nahmen die Bacillen an Zahl rasch ab, so daß trotz eifrigen Suchens in Schnitten vom 2. Tage (1. Probe) nur 2 stark segmentierte Bacillen, in Schnitten vom 19. Tage (3. Probe) nur ein einziger braunrot gefärbter, ebenfalls stark segmentierter Bacillus gefunden wurde. In den Schnitten vom 9. Tage (2. Probe), ferner vom 21. Tage (4. Probe) und vom 24. Tage (5. Probe) konnten überhaupt keine Bacillen nachgewiesen werden.

Aus der frischen Probe gelang es, in Kultur Tuberkelbacillen zu erhalten — 8 feinste Kolonieen etwas plumper Bacillen vom morphologischen und tinktoriellen Verhalten der Tuberkelbacillen — ferner gelang die Kultivierung von Tuberkelbacillen auch aus der verkästen Inguinallymphdrüse des Impftieres vom 2. Tage (1. Probe). Die Kulturen waren hier ziemlich reichlich aufgegangen und zeigten leuchtend rot gefärbte, etwas plumpe Stäbchen.

(Als Verunreinigung gingen aus dem Material von der frischen Probe spärliche Kolonieen des Staphylococcus albus auf, während solche in Schnitten nicht nachgewiesen werden konnten.)

Die Bacillen der frischen Probe hatten beim Impftier bei subkutaner Injektion allgemeine Tuberkulose hervorgerufen — Epitheloidzellentuberkel mit Riesenzellen und Verkäsung, sehr spärlich segmentierte Bacillen von deutlicher Rotfärbung. — Bei subkutaner Impfung vom 2. Tage (1. Probe) ergab sich als Resultat Tuberkulose mit Verkäsung der Injektionsstelle sowie der regionären Lymphdrüsengruppe, ferner Miliartuberkulose in Leber, Milz und Lunge — in den Lymphdrüsen peripher fibröse Epitheloidzellentuberkel mit reichlichen polynukleären Leukocyten und Kerntrümmern in den zentral erweichten Partien, Bacillen äußerst spärlich segmentiert und deutlich rot gefärbt. — Subkutane Verimpfung vom 21. Tage (4. Probe) ergab ein kleines Infiltrat der Injektionsstelle bei leichter Schwellung der regionären Lymphdrüsen — im Infiltrat epitheloide und Riesenzellen mit oft randständigen Kernen sowie mit spärlichen, vom Rande eindringenden Kapillargefäßen, keine Bacillen, in den Lymphdrüsen keine spezifischen Veränderungen. Bei intraperitonealer Impfung vom 19. Tage (3. Probe) fanden sich in der Leber des Impftieres feinste, gelblichweiße Pünktchen in großer Zahl — zwischen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

nekrotischen Leberzellbalken eingelagerte zahlreiche mono- und polynukleäre Leukocyten, keine Bacillen —, während das Tier sonst außer Marasmus keine Veränderungen zeigte. Bei intraperitonealer Verimpfung vom 24. Tage (5. Probe) fand sich bei dem gut genährten Tiere im Netz ein kleines weißliches Knötchen — verkäster, bindegewebig abgekapselter Herd, in den verkästen Massen zahlreiche Kerntrümmer, keine Bacillen. — Ein Impftier war bei subkutaner Impfung vom 9. Tage (2. Probe) am 3. Tage nach der Injektion eingegangen. Als Sektionsbefund fand sich lediglich ein hochgradiger Marasmus.

III. Reihe.

Die Bacillen sind im Schnittpräparat der frischen Probe mäßig reichlich vorhanden, stark segmentiert und deutlich rot gefärbt. Gleicherweise verhalten sie sich weiterhin in der Probe vom 9. und 11. Tage (1. u. 2. Probe). In der Probe vom 14. Tage gelang es nicht mehr, Bacillen nachzuweisen.

Kulturen auf Tuberkelbacillen hatten ein negatives Ergebnis. (Als Verunreinigung gingen aus dem Material der 3. Probe auf allen Nährböden spärliche Kolonieen des Staphyloc. pyog. alb. auf, während im Schnitt Kokken dieser Art nicht aufgefunden wurden.)

Die Bacillen der frischen Probe hatten bei intraperitonealer Impfung eines Meerschweinchens allgemeine Tuberkulose mit Verkäsung — Epitheloidzellentuberkel mit Riesenzellen und Verkäsung, mäßig reichliche, segmentierte und deutlich rot gefärbte Bacillen — hervorgerufen.

Das subkutan injizierte Impftier vom 9. Tage (1. Probe) zeigte ein verkästes Infiltrat der Injektionsstelle und kleinste Tuberkel im Netz, Milz, Lunge — in den Inguinallymphdrüsen zahlreiche konfluierende, peripher fibröse Tuberkel, zentral dichte Haufen mono- und polynuklearer Leukocyten; in den Mesenteriallymphdrüsen konfluierende Herde epitheloider Zellen, Bacillen spärlich segmentiert, deutlich rot gefärbt —; das Impftier vom 11. Tage (2. Probe) zeigte bei subkutaner Injektion Verkäsung der Injektionsstelle und der regionären Lymphdrüsen, Tuberkel in der Milz, Leber und Lunge — in den Inguinallymphdrüsen konfluierende Herde epitheloider Zellen, mäßig reichlich segmentierte, deutlich rot gefärbte Bacillen. — Der Obduktionsbefund des Meerschweinchens vom 14. Tage (3. Probe) war negativ.

IV. Reihe.

Die Bacillen, anfangs unsegmentierte, deutlich rot gefärbte Stäbchen, werden nach 22 Stunden (2. Probe) segmentiert. Die stets nur in sehr spärlicher Zahl nachweisbaren Bacillen sind im Deckglas vom 19. Tage (6. Probe) nicht mehr nachweisbar, dagegen konnten solche an einer Stelle in der Zweizahl im Schnitt vom 19. Tage gefunden werden.

Aus der Probe von 7 Stunden (1. Probe) gelang die Reinzüchtung von Tuberkelbacillen. Dieselben präsentierten sich als schlanke, deutlich rot gefärbte Stäbchen. Alle übrigen Kulturen blieben steril.

Die Bacillen der frischen Probe hatten bei subkutaner Injektion ein verkästes Infiltrat der Injektionsstelle, Tuberkulose mit Verkäsung der regionären Lymphdrüsen und miliare Tuberkel in Netz, Milz und Lunge erzeugt (s. III. Tv. vom 9. Tage 1. Probe) — peripher fibröse Tuberkel, die zentral zahlreiche mono- und polynukleäre Leukocyten enthalten in den regionären Lymphdrüsen, in den Mesenterialen diffuse Anhäufung epitheloider Zellen, Bacillen in spärlicher Zahl als segmentierte Stäbchen.

— Bei Verimpfung des Materials nach 6 (1. Probe) resp. 22 (2. Probe) Stunden zeigte sich bei subkutaner Injektion bei den Impftieren allgemeine Tuberkulose mit Verkäsung — in den Leberherden von der 1. Probe nekrotische Leberzellbalken mit eingestreuten mono- und polynukleären Leukocyten bei fibröser Abkapselung gegen die Umgebung in den Lymphdrüsen, ebenfalls fibrös abgekapselte Epitheloidzellentuberkel mit spärlichen Riesenzellen und zentraler Anhäufung von mono- und polynukleären Leukocyten, keine Bacillen nachweisbar, in den Leberherden der 2. Probe ebenfalls nekrotische Leberzellenbalken mit zwischen dieselben eingelagerten mono- und polynukleären Leukocyten, jedoch ohne periphere Bindegewebswucherung, in den Milzherden (verkäste Tuberkel) spärlich stark segmentierte, gut rot gefärbte Bacillen. — Während das Impftier vom 4. Tage (3. Probe) bei subkutaner Impfung neben verkästem Infiltrat Tuberkulose mit Verkäsung der regionären Lymphdrüsen zeigte — im Infiltrat neben nekrotischen Massen dichte Haufen mono- und polynukleärer Leukocyten, peripher von gewuchertem Bindegewebe umgeben, Bacillen in den dichten Zellenherden als spärliche segmentierte Stäbchen nachgewiesen, in den Lymphdrüsen Epitheloidzellentuberkel mit einzelnen Riesenzellen mit gleichmäßiger Anordnung der Kerne und zentraler Anhäufung mono- und polynukleärer Leukocyten — blieb das mit Material vom 7. Tage (4. Probe) subkutan geimpfte Tier gesund. Dagegen fand sich beim Impftier vom 13. Tage (5. Probe) bei subkutaner Injektion ein Infiltrat der Injektionsstelle und ein Leberherd — im Infiltrat nekrotische Massen mit spärlichen mono- und polynukleären Leukocyten, Riesenzellen mit randständigen Kernen und spärlichen Bacillen, im Leberherd Epitheloidzellentuberkel mit kleiner verkäster Stelle und daselbst eingelagerten mono- und polynukleären Leukocyten. Der Tierversuch vom 19. Tage (6. Probe) blieb negativ.

Stamm 3.

V. Reihe.

A. Milz eines mit Kulturmaterial (IV. generat. 5 Wochen alt auf Glycerinkartoffel gezüchtet, auf Glycerinagar fortgeimpft, aus einer tuberkulösen Bronchialdrüse) intraperitoneal geimpften Meerschweinchens (22. April 1904), das am 21. Tage nach der Injektion (13. Mai 1904) getötet wurde.

B. Leber desselben Meerschweinchens.

Sektionsbefund: Großes Netz in einen verschrumpften, von Käseherden durchsetzten rundlichen derben Strang umgewandelt, die mesenterialen Lymphdrüsen geschwollen, Milz mächtig vergrößert, von zahlreichen kleinen Tuberkeln durchsetzt, in der stark vergrößerten Leber zahlreiche konfluierende Käseherde, Tuberkel in mäßiger Zahl in der Lunge.

A.

Die Milz wurde in 7 Stücke geteilt, eines hiervon sofort verarbeitet, die übrigen 6 Proben wie bislang sämtliche Objekte in feuchter Kammer bei 38° im Brutofen aufbewahrt.

Frische Probe 13. Mai 1904.

1) Deckglas: Mäßig reichliche Bacillen einzeln, seltener zu 3 und 4, mit und ohne Segmentierung deutlich rot gefärbt.

2) Histologischer Befund: Zahlreiche konfluierende Herde großer protoplasmareicher Zellen mit bläschenförmigem Kern neben Epitheloidzellentuberkeln mit Riesenzellen und Verkäsung. Tuberkelbacillen fanden sich einzeln, zu 3 und 4 beieinander, oft stark segmentiert, deutlich rot gefärbt.

3) Kultur. Befund: Zarte Trübung der Bouillon (Staphyloc. pyog. alb.), sonst steril.

4) Tierversuch: s. o. Sektionsbefund histologischer Befund, s. fr. Probe 2.

1. Probe, entnommen am 4. Tage (16. Mai 1904).

1) Deckglas: Reichlich Bacillen, oft zu 6 und 10 in einer Gruppe, mit und ohne Segmentierung, verschieden stark gefärbt.

2) Histologischer Befund: Bacillen meist schwachrot gefärbt, vielfach segmentiert.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch 57. Tag (12. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutane rechte Bauchseite verkästes Infiltrat der Injektionstelle, verkäste Inguinallymphdrüsen der gleichen Seite, verkäste erbsengroße Drüse am Psoas der rechten Seite, Milz wenig vergrößert, in derselben vereinzelte Tuberkel, die bronchialen Lymphdrüsen vergrößert mit verkästen Herden, spärliche Tuberkel der Lungen, braune Atrophie der Organe, Marasmus.

Histologischer Befund: Die Lymphdrüsentuberkel sind stark fibröser Natur und konfluieren die ganze Lymphdrüse fast erfüllend zu größeren Herden. Riesenzellen sind zahlreich und in allen Größen in den Tuberkeln verstreut. Teilweise zeigen sie den Langhansschen Typus, teils präsentieren sie sich als größere Zellen mit zwei und mehreren dichtstehenden Kernen. Verkäsung ist in mehreren Stellen in Form unregelmäßiger Herde vorhanden.

Tuberkelbacillen fanden sich spärlich in Form stark segmentierter Stäbchen von guter Färbbarkeit.

2. Probe, entnommen am 7. Tage (19. Mai 1904).

1) Deckglas: analog 1. Probe.
2) Histologischer Befund: analog 1. Probe.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch 54 Tag. (12. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutane rechte Bauchseite käsiges Infiltrat der Injektionsstelle, verkäste vergrößerte Inguinallymphdrüsen rechts, verkäste Drüse am Musc. psoas der gleichen Seite, Milz etwas vergrößert von an Zahl reichlicheren Tuberkeln wie beim Impftier der 1. Probe durchsetzt, in den Lungen spärlichere Tuberkel, Tier verhältnismäßig gut ernährt.

Histologischer Befund: Die Tuberkel der Lymphdrüsen sind analog gebaut wie die Tuberkel der Lymphdrüsen der vorigen Probe (V. A. 1. Pr., 4. Tv., hist. Bfd.). In den verkästen Partieen sind jedoch hier eine große Menge polynukleärer Leukocyten und Kerntrümmer eingestreut, so daß bei schwacher Vergrößerung das Bild der Nekrose stark gegen die zahllosen eingestreuten polynukleären Leukocyten und Kerntrümmer zurücktritt. Tuberkelbacillen fanden sich sehr spärlich in Form stark segmentierter, etwas bräunlichrot gefärbter Stäbchen.

3. Probe, entnommen am 9. Tage (21. Mai 1904).

1) Deckglas: analog den vorigen Proben 1 u. 2.
2) Histologischer Befund: analog den vorigen Proben 1 u. 2.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch unterlassen.

4. Probe, entnommen am 12. Tage (24. Mai 1904).

1) Deckglas: starke Segmentierung an allen Bacillen, sonst Befund wie vorher.
2) Histologischer Befund: analog den früheren Befunden.
3) Kultur. Befund: auf Agarplatte 1 Kolonie Staphyl. alb., sonst steril.
4) Tierversuch 52. Tag (15. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite, verkästes, flaches, linsengroßes Infiltrat der Injektionsstelle, die gleichseitigen Inguinallymphdrüsen erbsengroß, verkäst, am Musc. psoas rechts eine vergrößerte zentral verkäste Drüse, gleicherweise die Bronchiallymphdrüsen beschaffen, Milz mäßig vergrößert, von über hirsekorngroßen Tuberkeln durchsetzt, in den Lungen 4 graue Tuberkel, Tier verhältnismäßig gut genährt.

Histologischer Befund: Analog 2. Pr., Tv. Auch hier liegen in den verkästen Partieen der Tuberkel außerordentlich zahlreiche polynukleäre Leukocyten und Kerntrümmer.

Tuberkelbacillen nicht auffindbar.

5. Probe, entnommen am 16. Tage (28. Mai 1904).

1) Deckglas: analog den vorhergehenden.
2) Histologischer Befund: spärliche Bacillen, analog den vorhergehenden Proben.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch 48. Tag (15. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite, Tier in gutem Ernährungszustand, ohne Veränderungen.

B.

Der Leber wurden 7 gleich große Stücke wie die Teilstücke der Milz entnommen, eines hiervon sofort verarbeitet, die übrigen 6 Teile kamen in den Brutofen bei 38°, wo sie ohne feuchte Kammer bis zur Entnahme der 1. Probe eintrockneten. Nach

Entnahme der 1. Probe (4. Tag) kamen die Objekte in eine feuchte Kammer. Die vorher ganz getrockneten Stücke wurden nunmehr wieder weich und lagen dann in einer bräunlichen, trüben Flüssigkeit, sowie die in feuchter Kammer von Anfang an behandelten Objekte. Die Verarbeitung der einzelnen Proben geschah zu gleicher Zeit wie die Milzproben der gleichen Reihe.

Frische Probe 13. Mai 1904.

1) Deckglas: mäßig reichlich gut gefärbte Bacillen einzeln, seltener zu zweien.

2) Histologischer Befund: In der Leber sind zahlreiche unregelmäßige Herde nekrotischer Leberzellenbalken vorhanden, in denselben stellenweise rundliche nekrotische schollige Massen mit eingelagerten Leukocyten und Kerntrümmern sichtbar. Daneben finden sich mehrfach kleine rundliche Herde aus protoplasmareichen Zellen mit bläschenförmigen Kernen, sowie Leukocyten und zentraler Nekrose.

Tuberkelbacillen sind stellenweise segmentiert, auch zu mehr als 2 und 3 Exemplaren zu finden.

3) Kultur. Befund: auf Agarplatte 1 Kolonie Staphyl. alb., sonst steril.

4) Tierversuch s. o., Sektionsbefund und histol. Befund siehe unter fr. Probe 2.

1. Probe, entnommen am 4. Tage (16. Mai 1904).

1) Deckglas: analog frische Probe.

2) Histologischer Befund: analog frische Probe.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 21. Tag (5. Juni 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite, kleines käsiges Iufiltrat der Injektionsstelle, Inguinaldrüsen rechts etwas über hanfkorngroß mit käsigen Herden, die stellenweise einen mehr kreidigen Eindruck machen, braune Atrophie der inneren Organe, Marasmus.

Histologischer Befund: Das Infiltrat besteht aus dichtstehenden großen Zellen, die zumeist einen bläschenförmigen Kern, mehrfach auch 2 und mehrere Kerne enthalten. Vom Rande aus dringen zahlreiche Gefäße, von Bindegewebszügen begleitet, in das Infiltrat ein. An einer Stelle ist eine dichte Anhäufung polynukleärer Leukocyten und zwischen denselben zahlreiche Kerntrümmer zu sehen. Sonst sind Leukocyten in mäßiger Zahl zwischen die großen oben beschriebenen Zellen eingestreut.

Tuberkelbacillen fanden sich in dem erwähnten Herde aus polynukleären Leukocyten sehr spärlich als gut rot gefärbte, sark segmentierte Stäbchen.

Die Lymphdrüsen der rechten Inguinalgegend enthalten konfluierende Herde protoplasmareicher Zellen mit bläschenförmigem Kern, die ihrerseits mehrfach Stellen mit dichten Anhäufungen polynukleärer Leukocyten aufweisen, wie auch sonst solche in reicher Zahl zwischen den oben beschriebenen Zellen vorhanden sind.

Tuberkelbacillen fanden sich sehr spärlich zu zweien als gut gefärbte, stark segmentierte Stäbchen (an 2 Stellen je 2 Bacillen) in dem dichten Leukocytenhaufen.

2. Probe entnommen am 7. Tage (19. Mai 1904.

1) Deckglas: spärliche Bacillen wie bei Probe 1.

2) Histologischer Befund: analog 1. Probe.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 44. Tag (2. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Tier in gutem Ernährungszustand, ohne Veränderungen.

3. Probe entnommen am 9. Tage (21. Mai 1904).

1) Deckglas: An einer Stelle 15—20 Bacillen dicht beieinander, schwach gefärbt, segmentiert.

2) Histologischer Befund: analog der vorigen Probe.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch unterlassen.

4. Probe entnommen am 12. Tage (24. Mai 1904).

1) Deckglas: Spärliche Bacillen zu zweien, seltener in der Einzahl, schlecht gefärbt, segmentiert.

2) Histologischer Befund: analog dem Deckglas.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch 39. Tag (2. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Tier in gutem Ernährungszustand, ohne Veränderungen.

5. Probe entnommen am 16. Tage (28. Mai 1904).

1) Deckglas: reichlich körnig zerfallene, oft rotbraune oder blaß gefärbte Bacillen.
2) Histologischer Befund: analog dem Deckglas.
3) Kultur. Befund: steril:
4) Tierversuch 35. Tag (2. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Tier in gutem Ernährungszustand, ohne Veränderungen.

6. Probe entnommen am 20. Tage (2. Juni 1904).

1) Deckglas: nur spärliche, bröcklige Bacillen von schwachroter Farbe.
2) Histologischer Befund: analog 5. Probe.
3) Kultur. Befund: steril.
4) Tierversuch 33. Tag (2. Juli 1904).

Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite. Tier in gutem Ernährungszustand, ohne Veränderungen. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Tuberkulosefrage der Kuhpockenlymphe.

Mitteilungen aus der Zentralimpfanstalt in Stuttgart.

Veröffentlicht von Medizinalrat Dr. **Breit,**
ständigem Vertreter des Zentralimpfarztes.

Durch Carinis Arbeit über „Kuhpockenlymphe und Tuberkulose“ in Bd. XXXVII. Heft 2 dieser Zeitschrift veranlaßt, erlaube ich mir, mit Zustimmung des Königl. Medizinalkollegiums, ebenfalls eine kleine Reihe ähnlicher Versuche zu publizieren. — Um mich dabei möglichst kurz fassen zu können, darf ich wohl auf die dort angeführte Literatur hinweisen und möchte ich meinerseits nur noch folgendes hinzufügen: In den Jahresberichten großer Impfinstitute, wie in Wien, Hamburg und München, ist es mir nicht gelungen, irgend einen Fall von Impftuberkulose, durch tuberkulosen Stoff hervorgerufen, aufzufinden. Voigt, der bekannte Vorstand der Hamburger Anstalt, sagt vielmehr in seinen Beobachtungen über Impfschäden und vaccinale Mischerkrankungen (Volkmannsche Sammlung klinischer Vorträge vom Jahr 1903, No. 355) ausdrücklich, daß ihm während seiner 30-jährigen amtlichen Tätigkeit in Hamburg nichts derartiges vorgekommen sei, obwohl er zugibt, daß eine schon vorhandene Tuberkulose von der Impfung an und für sich ungünstig beeinflußt, oder, wie Pfeiffer sich ausdrückt, evoziert werden könne. — Auch der hiesige erfahrene Zentralimpfarzt, Sanitätsrat Dr. Widenmann, sowie ich selbst, bei einer nunmehr 25-jährigen Tätigkeit als öffentlicher Impfarzt, vermögen uns keines einzigen Falles zu erinnern, wo die impfgegnerische Anklage, daß durch tierischen Impfstoff Tuberkulose entstanden sei, sich bewahrheitet hätte. Die große Sorgfalt, die man in Württemberg, wie anderswo, auf die Auswahl der Impftiere vor wie nach der Schlachtung verwendet, schließt jede derartige Verdächtigung von Anfang an aus. Und obwohl man vom wirtschaftlichen Standpunkte aus eine Erleichterung in dieser Hinsicht wünschen möchte, so bleibt doch bei gründlicher Ueberlegung der ganzen Angelegenheit vorläufig nichts anderes übrig, als in Carinis Schlußfolgerung einzustimmen, daß es zur Zeit noch nicht ratsam sei, von dem bewährten System in der Auswahl der Impftiere abzugehen, sofern man hier indessen noch der öffentlichen Meinung im Interesse der friedlichen Durchführung des Impfgeschäftes ein Zugeständnis machen müsse.

Tabelle I.

Bei den nachstehenden Versuchen wurde anfänglich, und zwar bei allen am 9. Juli geimpften Tieren, von den verschiedenen Stoffen je 1 ccm Rohlymphe auf 4 ccm Bouillon genommen, damit fein verrieben und dem Versuchstiere in die Bauchhöhle eingespritzt. Da diese Tiere aber alle starben, so wurde später nur noch $^1/_2$ ccm Rohlymphe in obiger Weise verwendet.

No.	Impftier	Alter	Datum der Abimpfung	Tierärztlicher Befund nach der Schlachtung	Meerschweinchenimpfung		Ausgang
					Zahl	Datum	
38	Limpurger Bulle	ca. 13 M.	4. V. 04	Auf der Pleura zahlreiche, zottige, bindegewebige Auflagerungen (Verdacht auf Tuberkulose)	1. 2. 3.	9. VII. 04 9. VII. 04 19. VII. 04	† 11. VII. 04 † 29. VII. 04 bleibt gesund
44	do.	ca. 14 M.	21. V. 04	In der vorderen und hinteren Mediastinal und in der rechten Bronchiallymphdrüse erbsen- bis haselnußgroße, gelbe, käsige Herde. Der rechte vordere Lungenlappen durchsetzt mit gelben, verkalkten Herden (Tuberkulose)	1. 2. 3. 4.	9. VII. 04 9. VII. 04 19. VII. 04 19. VII. 04	† 11. VII. 04 † 12. VII. 04 bleibt gesund † 30. VIII. 04
47	do.	ca 13 M.	25. V. 04	Milz etwa ums doppelte vergrößert (hyperämisch-hyperplastischer Milztumor). Das subseröse Fettgewebe im Becken teilweise gelbsulzig. Auf dem Rippenfell einzelne graurötliche, zottige Behängsel (Tuberkulose nicht ausgeschlossen)	1. 2. 3. 4.	9. VII. 04 9. VII. 04 19. VII. 04 26. VII. 04	† 11. VII. 04 † 23. VII. 04 † 27. VII. 04 bleibt gesund
53	do.	ca. 13 M.	8. VI. 04	An der Pleura costalis einige graurötliche, zottige Behängsel (Tuberkuloseverdacht)	1. 2. 3. 4.	9. VII. 04 9. VII. 04 19. VII. 04 26. VII. 04	† 11. VII. 04 † 23. VII. 04 bleibt gesund bleibt gesund
62	Simmentaler Bulle	ca. 12 M.	31. VIII. 04	Die Pleura pulmonal. cost. und Diaphragmatica ist rechterseits mit rötlichen, sammetartigen Auflagerungen bedeckt. Die Lymphdrüsen der unteren Brustwand sind geschwollen (Tuberkulose)	1. 2.	1. IX. 04 1. IX. 04	† 16. IX. 04 bleibt gesund (25. X. 04 getötet, keine Tuberkelbacillen)

Der Uebersichtlichkeit wegen habe ich das ganze Material (nach Carinis Vorgang) in mehrere Tabellen eingereiht und hoffe, daß dieselben leicht verständlich sind. Bemerken muß ich noch, daß in Württemberg überhaupt nur Bullen im Alter von $^1/_2$ Jahr und darüber zur Stoffzucht verwendet werden.

Zu diesen Versuchen wurden im ganzen 17 Tiere verwendet, von denen schon 10 nach 2—20 Tagen, eines aber erst nach 42 Tagen einging (s. Impftier 44, Meerschweinchen No. 4). Dasselbe wies jedoch bei der Sektion am 30. VIII. keine Tuberkulose auf, so daß man mit den 6 gesund gebliebenen im ganzen wenigstens bei 7 Versuchstieren keine Impftuberkulose nachgewiesen hat. Auch die übrigen 10 Meerschweinchen wurden seziert und natürlich ohne Tuberkulose befunden, da sie den Impfstoff überhaupt zu kurz beherbergt hatten, um angesteckt zu werden; sie können daher nicht als beweisend gelten. Der Impfstoff selbst war allerdings nur bei Impftier 62 ganz frisch und war bei No. 38, Meerschweinchen 3, bereits 66 Tage alt. Dies möchte ich aber nach Carinis Erfahrungen nicht für bedenklich halten, da der Impfstoff hiernach, wenn er, wie im hiesigen Impfinstitut, kühl aufbewahrt wird, ziemlich lange, jedenfalls bis zu 3 Monaten, lebensfähige Tuberkelbacillen beherbergen kann. Uebrigens hat gerade der frischeste Stoff, derjenige vom Impftier 62, der nur 1 Tag alt war, noch nach 55 Tagen ein gesundes Meerschweinchen leben lassen, obwohl der betreffende Bulle nach dem tierärztlichen Attest nicht nur verdächtig auf Tuberkulose, sondern tatsächlich tuberkulös war.

Tabelle II.

Der von dem Euter einer Kuh, das stark tuberkulös war, bezogene Impfstoff wurde 2 Versuchstieren in die Bauchhöhle eingespritzt, in Portionen von $^1/_2$ ccm Lymphe auf 4 ccm Bouillon. — (Die Kuh stand durch gütigst gewährtem Anschlnß an die königl. tierärztliche Hochschule zur Verfügung.)

Meerschweinchenimpfnng		Resultate	Sektionsergebnis
Zahl	Datum		
1.	30. VII. 04	† 31. VIII. 04	jauchige Peritonitis; es war kein Tuberkelbacillennachweis möglich
2.	30. VII. 04	bleibt gesund	nach Tötung am 1. IX. fanden sich keine Tuberkelbacillen vor

Hiernach ist es nicht wahrscheinlich, daß der von einem eutertuberkulösen Tiere gewonnene Impfstoff Tuberkelbacillen enthält.

Aus dem Versuch (Tab. III) geht hervor, daß es den Alexinen des Impfstoffs keineswegs möglich ist, etwa vorhandene Tuberkelbacillen in einem Zeitraum von 4 Wochen mit einiger Sicherheit abzutöten. Man wird daher einen Impfstoff, der auf Tuberkelbacillen verdächtig wäre, auch nach dieser Zeit nicht ohne vorherige Untersuchung freigeben können (Tab. IV).

Als Resultat dieser Untersuchung kann jedenfalls gelten, daß Tuberkelbacillen auch noch nach einer 4-wöchigen Einwirkung des Glycerins virulent bleiben können, mithin ein auf Tuberkelbacillen verdächtiger Stoff vor dieser Zeit jedenfalls nicht zu verwenden sein dürfte, trotz der üblichen Behandlung mit Glycerin.

Hier sei noch erwähnt, daß, um die Einwirkung des Glycerins auf die Versuchstiere überhaupt kennen zu lernen, einem Meerschweinchen

1 ccm Glycerin. pur. in die Bauchhöhle eingespritzt wurde, jedoch ohne ersichtlichen nachteiligen Erfolg für das Tier.

Tabelle III.

2 ccm Vaccine von dem ganz gesunden Impftier No. 52, ca. 12 Monate alter Limpurger Bulle, der am 8. Juni 1904 abgeimpft worden war, wurden am 14. Juli mit 1 Oese virulenter Tuberkelbacillenkultur vermischt und dann in Portionen von 0,5 ccm Stoff auf 4 ccm Bouillon teils noch am gleichen Tage, teils erst nach 4 Wochen auf je 2 Meerschweinchen durch Einspritzung in die Bauchhöhle übertragen.

Meerschweinchenimpfung		Resultate	Sektionsergebnis
Zahl	Datum		
a) 1.	14. VII. 04	bleibt lebend	wird am 29. VIII. seziert; am Netz feine, hirsekorngroße Knötchen, im Ausstrich spärliche Tuberkelbacillen
2.	14. VII. 04	do.	wird am 29. VIII. seziert; außer einem tuberkulösen Absceß am Netz nichts besonderes; zahllose Tuberkelbacillen im Ausstrich
b) 1.	15. VIII. 04	do.	wird am 25. X. seziert; im Netz einige opake feinste Knötchen; im Ausstrich spärliche, aber deutliche Tuberkelbacillen
2.	15. VIII. 04	do.	wird am 25. X. seziert; Lymphdrüsen intakt, ebenso seröse Häute; im Ausstrich der Mesenterialdrüsen und einiger Drüsen des Netzes kein positiver Befund

Tabelle IV.

Um die Einwirkung des Glycerins auf die Tuberkelbacillen kennen zu lernen, wurden virulente Kulturen derselben in Glycerin. pur. eingelegt und in sich verlängernden Zeitabschnitten unter entsprechendem Zusatz von Bouillon den Versuchstieren in die Bauchhöhle eingespritzt.

Meerschweinchenimpfung		Dauer der Einwirkung des Glycerins auf die Kult.	Resultat	Sektionsergebnis
Zahl	Datum			
1.	30. VII. 04	3 Tage	lebt	2. IX. getötet: stark abgemagert, am Dickdarm tuberkulöser Abseeß; massenhafte Tuberkelbacillen
2.	4. VIII. 04	6 „	† 5. VIII. 04	in den Organen nichts besonderes nachzuweisen. Milz und Leber leicht geschwollen
3.	10. VIII. 04	10 „	lebt	2. IX. getötet: das Ergebnis der Untersuchung ist nicht einwandfrei
4.	15. VIII. 04	15 „	lebt	25. X. getötet: am Netzansatz feinste Knötchen; deutliche, wenn auch spärliche Tuberkelbacillen
5.	21. VIII. 04	21 „	lebt	25. X. getötet: am Netzansatz feinste Knötchen; im Ausstrich aus den Gekrösedrüsen spärliche aber gut gefärbte Tuberkelbacillen
6.	28. VIII. 04	28 „	lebt	25. X. getötet: feinste Knötchen an Peritoneum u. Pleura; massenhafte Tuberkelbacillen

Schließlich spreche ich noch Herrn Professor Dr. **Zwick** an der hiesigen tierärztlichen Hochschule, sowie dessen Assistent Herrn Dr. **Dobler** meinen besten Dank für die vielfältige Unterstützung bei meinen Versuchen aus.

Nachdruck verboten.

Eine infektiöse Erkrankung der Kanarienvögel.

[Aus dem k. k. Universitätsinstitute für Seuchenlehre in Prag (Vorstand: Prof. Dr. Theodor Kasparek).]

Von Tierarzt **Franz Pfaff.**

Neben den allen Vögeln eigenen infektiösen Erkrankungen, wie Choléra des poules und Tuberkulose, wurden bei den Kanarienvögeln noch eigene seuchenartige Erkrankungen von Rieck, Kern und Zürn beobachtet. Was die Empfindlichkeit für die Vogelpest und die Diphtherie dieser Vögel betrifft, so wurde sie zwar bei vielen Singvögeln nachgewiesen, bei den Kanarienvögeln sind jedoch in der mir zugänglichen Literatur speziell keine Fälle weder von experimentellen noch von natürlichen Erkrankungen dieser Art verzeichnet.

Außerdem wurde noch von Klee eine Bronchopneumomykose der Kanarienvögel beschrieben.

Die von Rieck, Kern und Zürn beobachteten Erkrankungen wurden von Nocard und anderen gleich der Geflügelcholera in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämieen eingereiht, höchstwahrscheinlich infolge der Aehnlichkeit ihrer Erreger in der Morphologie und Pathogenität.

Die von Rieck im Jahre 1889 in Dresden eingehend studierte Kanarienvogelseuche äußerte sich als echte Enteritis, war jedoch von der Geflügelcholera durch viele andere Merkmale verschieden. Außer den Veränderungen im Darmtrakte wurde in allen Fällen „eine rußartige Verfärbung der Haut“ am Hals, an der Brust und am Bauch, sowie Lebernekrosen gefunden. Die im Blute zahlreich vorgefundenen, 1,5—2,5 μ langen, ovalen, lebhafte Eigenbewegung zeigenden Bakterien ließen sich mit allen gewöhnlichen Farbstoffen leicht färben, die Gramsche Färbung behielten sie nicht. Auf Agar entwickelten sich scharf konturierte, fein gekörnte Kolonieen. Auf Kartoffel üppiger, graugelber Belag; im Gelatinestich zusammenhängender Faden. Die Bouillon wird in 24 Stunden gleichmäßig getrübt. „Bei den der Impfung erlegenen Versuchstieren“ findet Rieck „eine eigentümliche, partielle Lebernekrose. In rotbrauner Lebersubstanz sind zahlreiche, nicht scharf umschriebene, gelbgraue Herde eingesprengt, welche sich nicht tief in das Parenchym erstrecken. In Vesuvinschnitten ist hier das Gewebe in eine gleichmäßig gefärbte, vollständig kernlose Masse umgewandelt, in welcher einzelne schwach gefärbte Rundzellen auftreten; die Querschnitte der stark erweiterten Blutgefäße sind mit Bakterienhaufen ausgefüllt, daher intensiv braun gefärbt. In manchen Fällen war die ganze Leberoberfläche nekrotisch. Niemals Milzveränderung.“ Subkutan geimpft verendeten Sperlinge in 24 Stunden, Tauben in 3 Tagen, weiße Mäuse in 4 Tagen. Im Herzblute, sowie in der Leber dieser Tiere konnte das oben beschriebene Bakterium mikroskopisch und kulturell nachgewiesen werden. „An der Impfstelle, ähnlich wie bei Typhoid, im subkutanen und intramuskulären Gewebe schwefelgelbe, derbsulzige Masse. Im Gewebssaft zahlreiche Bakterien.“ Die bei Hunden und Mäusen vorgenommenen Fütterungsversuche waren nur bei Mäusen von Erfolg.

Die Kernsche Kanarienseuche wird als eine der Choléra des poules ähnliche Erkrankung und ihr Erreger als ein unbewegliches, Gram-negatives Bakterium, welches sowohl morphologisch als auch in seiner Pathogenität von der Geflügelcholera verschieden ist, geschildert. Auf Agarplatten aus dem Herzblute geimpft, wächst dieses Bakterium in erhabenen, weißlichen, durchdringenden Geruch verbreitenden Kolonieen. Die Kartoffelkultur erscheint als schmutzigweißer Rasen. Im Gelatinestich feine Knötchen. In Zuckeragar Gärung und Gasbildung; in der Bouillon entsteht eine Trübung mit leicht verteilbarem Bodensatz. Mit Reinkulturen gefütterte Sperlinge, Hänflinge, Distelfinken und Kanarien starben in 6—7 Tagen. Subkutan geimpfte Sperlinge gingen in 3—6 Tagen ein. Tauben und Hühner erwiesen sich unempfindlich.

Auch von Zürn wird in der Literatur eine Infektionskrankheit bei Kanarien unter dem Namen Kanarienseuche angeführt, soll jedoch nach Nocard der Kernschen Kanarienseuche analog sein.

Eine den angeführten Kanarienseuchen klinisch ähnliche Infektion hatte ich Gelegenheit, vor einem Jahre bei mehreren Kanarienvögeln zu untersuchen.

Da sich diese Erkrankung bakteriologisch und auch in ihrem pathologisch-anatomischen Bilde von den erwähnten Krankheiten auffallend verschieden erwies, sah ich mich veranlaßt, weitere Untersuchungen über diese Seuche vorzunehmen.

Anamnestisch wurde festgestellt, daß der Eigentümer — ein Vogelhändler — schon viele Stücke von Kanarien unter denselben Erscheinungen, d. i. Abnahme und schließlich gänzliches Aufhören der Freßlust, Durchfall und Schläfrigkeit, verloren hatte. Und zwar hätte er die Krankheit zuerst bei den „Harzern“, welche er vor kurzem kaufte, beobachtet. Von diesen verbreitete sich alsbald die Seuche auf seine eigene Zucht.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen der Organe der erkrankten Kanarien boten folgendes Bild dar:

Die Milz und die Leber war von zahlreichen gelblich-weißen Herden durchsetzt. Entzündung der Darmschleimhaut; an den Lungen, im Herzen und in den übrigen Organen keine Veränderungen.

Im Herzblute, besonders aber in der Milz und Leber waren zahlreiche Bakterien von gleichem Aussehen zu finden.

Die erwähnten Läsionen konnten bei 4 Kanarienvögeln, die mir zur Untersuchung überbracht wurden, beobachtet werden. In einem dieser Fälle waren außerdem in der Darmschleimhaut stecknadelkopfgroße, gelblich-graue Knötchen zu sehen.

Die histologische Untersuchung der veränderten Organe führte zu folgendem Resultate:

In den mit Hämalauneosin gefärbten Schnitten der Leber sieht man bei schwacher Vergrößerung zahlreiche, sich deutlich von dem übrigen Gewebe abhebende, verschieden große, unregelmäßig gestaltete, dunkler gefärbte Partieen, welche keine bestimmte Struktur — bei stärkerer Vergrößerung feine Granulierung — erkennen lassen und den früher beschriebenen, makroskopisch sichtbaren, gelblich-weißen Herden entsprechen. Das übrige Gewebe der Leber ist sehr blutreich, die größeren Pfortaderäste, sowie auch die interlobulären Blutgefäße sind stark mit Blut gefüllt. Hie und da sind kleine Hämorrhagieen zu sehen. In den noch erhaltenen Partieen macht sich schwache Verfettung bemerkbar.

Auch die Milz bietet ein ähnliches Bild dar. In dieser sind ebenfalls solche fast strukturlose, dunkler gefärbte, unregelmäßige Inseln in großer Menge zu finden. Die noch erhaltenen Teile sind stark hyperämisch.

In den durch die im Darm vorgefundenen Knötchen geführten Schnitten sieht man die oberflächlichen Epithelien desquamiert; die tiefer liegenden, welche teils verschwommene Konturen zeigen, nehmen die Kernfärbung nicht an. Kleinere Teile der Drüsenschläuche sind noch erhalten. Das Knötchen, ein pathologisch veränderter Lymphfollikel, zeigt an der Peripherie noch deutliche Struktur. Die Mitte ist fast homogen, mit einigen etwas dunkler gefärbten, leicht granulierten Stellen, welche bei stärkerer Vergrößerung zu sehen sind.

Nach Unna mit Polychrommethylenblau gefärbte Präparate zeigen, daß die in der Leber und in der Milz vorgefundenen nekrotischen Herde förmlich aus Anhäufungen gleichartiger Bakterien zusammengesetzt sind. Derselbe Befund wurde auch an den dunkleren Stellen der nekrotischen Partieen des Darmfollikels konstatiert.

Der aus dem Blute in allen Fällen reingezüchtete Mikroorganismus war ein 0,5 μ breites und 1—2 μ langes, keine Verbände bildendes, unbewegliches Bakterium. Bei der Geißelfärbung nach Löffler konnten weder anhaftende noch abgerissene Geißeln konstatiert werden. Sporenbildung keine. Alle gewöhnlichen Anilinfarben wurden bei der Färbung gut angenommen, nach Gram jedesmal Entfärbung. Nach Ziehl-Gabbet nicht färbbar. Sein Temperaturoptimum die Wärme des Körpers.

Aus dem Herzblute auf Agarplatten gezüchtet bildete das Bakterium nach 24 Stunden durchscheinende, gelblich-graue, nicht konfluierende, scharf abgegrenzte, bei schwacher Vergrößerung grob granulierte, koherente, ziemlich trockene Kolonieen. Dasselbe Bild, nur bedeutend zahlreichere Menge der Kolonieen in den aus der Milz und aus der Leber angelegten Plattenkulturen.

In der Bouillon nach 24 Stunden Bildung von feinen Flocken, die allmählich zu Boden sanken, wodurch nach einigen Tagen die Bouillon wieder klar wurde. Gleichmäßige Trübung wurde nie beobachtet.

Auf schrägem Agar ein gelblich-weißer Belag. In der Gelatine bläulich-weißer Ueberzug. Im Zuckeragar entwickelte sich die Schüttelkultur in den oberen zwei Dritteln in Form von flockenförmigen Kolonieen ohne Blasenbildung. Die Reaktion des Zuckeragars wird in 48—36 Stunden sauer. Im Stich sowohl im Agar als auch in der Gelatine bildet sich ein zarter, in der Tiefe verlierender Faden. Die Milch wird nicht vergoren, ihre Reaktion bleibt auch in gut wachsenden Kulturen alkalisch. In Bouillonröhrchen konnte nach 6—7 Tagen keine Indol- und auch keine SH_2-Bildung nachgewiesen werden. Mit Neutralrot gefärbte Bouillon verändert nicht ihre Färbung. Auch in Kulturen bildet das Bakterium keine Verbände. Was die Bildung der Toxine dieses Bakteriums betrifft, so konnten diese aus 48 Stunden alten Kulturen durch Erwärmen und Filtrieren isoliert werden, und es konnte mit 0,25 ccm des Toxins ein Kanarienvogel getötet werden.

Diese charakteristischen Bakterien konnten in allen Fällen morphologisch und kulturell nachgewiesen werden und es gelang jedesmal, sie aus dem kranken Materiale in Reinkulturen herauszuzüchten.

Die Pathogenität dieses Bakteriums wurde an Kanarien, Sperlingen, Zeisigen, Hühnern, Tauben, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen geprüft.

Längere Zeit mit Kulturen gefütterte Kanarien reagierten nicht. Es wurde noch die Empfindlichkeit von Individuen mit affizierter Schleimhaut gegen diese Seuche geprüft, aus welchem Grunde ihre Darmschleimhaut vorher mit Ricinusöl oder mit Senfsamen gereizt wurde.

Nachdem den Vögeln mit auf diese Art gereizter Darmschleimhaut verdünnte Bouillonkultur als Getränk vorgelegt wurde, zeigten diese 5 Tage später Abgeschlagenheit, verminderte Freßlust und Durchfälle. Nach 2-tägiger Krankheitsdauer gingen dieselben zu Grunde, während zur Kontrolle beobachtete, nicht infizierte Vögel diese Darmreizung gut vertrugen. Der Sektionsbefund ergab: Multiple nekrotische Herde in der Leber und in der Milz, die Darmschleimhaut geschwellt, mit kleinen gelblichen Knötchen. Aus dem Herzblute, aus der Leber und aus der Milz konnten kulturell die typischen Bakterien, welche auch mikroskopisch überall zu finden waren, herausgezüchtet werden.

Ein subkutan geimpfter Kanarienvogel ging in 3 Tagen unter ähnlichen Erscheinungen ein; die Sektion, wie auch die mikroskopische und bakteriologische Untersuchung boten dasselbe Bild wie bei den gefütterten Versuchsvögeln dar.

Subkutan infizierte Sperlinge erlagen in 4 Tagen der Infektion. Fütterungsversuche ohne und mit gereizter Schleimhaut waren bei ihnen ohne Erfolg.

Dagegen reagierten Zeisige sowohl auf die Fütterung wie auch auf die subkutane Einverleibung der Kultur. Ein gefütterter Zeisig erkrankte ähnlich wie die Kanarienvögel nur nach vorhergegangener Reizung der Darmschleimhaut und ging in 10 Tagen unter den typischen Symptomen zu Grunde. Auch was die pathologisch-anatomischen Veränderungen, den mikroskopischen und bakteriologischen Befund betrifft, konnten dieselben Wahrnehmungen gemacht werden. Die Ergebnisse der subkutanen Impfung beim Zeisig, welcher 3 Tage nach der Infektion verendete, waren ebenfalls mit den geschilderten Erscheinungen konform, nur waren die pathologisch-anatomischen Veränderungen makroskopisch nicht so ausgeprägt, und im Blute sehr wenig Bakterien zu finden.

Eine mit 5 ccm frischer Kultur subkutan geimpfte Henne erwies sich diesem Krankheitserreger gegenüber unempfindlich.

Tauben erlagen der subkutanen Infektion nach 2-tägiger Krankheitsdauer (Mattigkeit, Diarrhöe) bereits nach 5 Tagen. Bei der Sektion wurden hirsekorngroße, gelbliche Knötchen in der Milz und in der Leber gefunden. Aus dem Herzblute, sowie aus der Leber und der Milz ließ sich ebenfalls sowohl mikroskopisch als auch kulturell unser Bakterium nachweisen. Durch die Fütterung konnte bei 3 Tauben selbst mit gereizter Darmschleimhaut die Krankheit nicht hervorgerufen werden.

0,2 ccm ca. 24 Stunden alter Bouillonkultur subkutan geimpft töteten weiße Mäuse in 4 Tagen. Die Milz und die Leber zeigten multiple nekrotische Herde. Diese und auch das Herzblut enthielten die beschriebenen Bakterien, welche auch reingezüchtet werden konnten.

Größere Versuchstiere, wie Kaninchen und Meerschweinchen, erlagen der intraperitonealen Infektion, und zwar Meerschweinchen in 6, Kaninchen in 11 Tagen. Bei beiden Versuchstieren rief die Infektion eine Peritonitis, miliare, nekrotische Herde in der Lunge, in der Leber, Milz, in den Nieren und in dem Darme hervor. Im Peritonealexsudate, im Blute und in den veränderten Organen zahlreiche, die vorher beschriebenen, für unsere Kanarienseuche charakteristischen Bakterien. Subkutane Infektion war nur beim Meerschweinchen von letaler Erkrankung mit chronischem Verlauf begleitet, während das Kaninchen am Leben blieb. Bei dem erst nach 4 Wochen umgestandenen Meerschweinchen konnten bei der Sektion dieselben Veränderungen wie nach der intraperitonealen Infektion beobachtet werden.

Die histologisch untersuchten Organe der verendeten Versuchstiere waren in derselben Weise verändert wie bei der natürlichen Infektion.

Tabelle I.
Uebersicht der Pathogenität unseres Bakteriums gegenüber einzelnen Versuchstieren.

Kanarien	Sperlinge	Zeisige	Hühner	Tauben	Weiße Mäuse	Meerschweinchen	Kaninchen
+	+	+	—	+	+	+	+

Was die weiteren biologischen Eigenschaften unseres Bakteriums anbelangt, konnte ferner konstatiert werden, daß die Tenazität seiner Virulenz ziemlich stark ist. Eine 2 Monate alte Agarkultur war noch für weiße Mäuse und Tauben pathogen. 60° Wärme töten das Bakterium nach 5 Minuten ab. Den gebräuchlichen Desinfektionsmitteln gegenüber erwies sich das Bakterium im Vergleiche mit anderen etwas resistenter. Mit 1-prom. Sublimatlösung und 2-proz. Karbolsäurelösung durchgeführte Untersuchungen nach Sternberg-Miquel-Yersinscher Methode ergaben, daß die bezeichneten Lösungen von den zwei Desinfektionsmitteln bereits in einer Minute dieses Bakterium vernichten.

Die Ergebnisse der angeführten Untersuchungen, mit den Angaben über die anderen, bei den Kanarienvögeln beobachteten seuchenartigen Erkrankungen — soweit dies durchführbar — verglichen (Tabelle II), weisen deutlich darauf hin, daß es sich in unserem Falle um eine besondere Infektion, welche durch einen eigenartigen, von den der anderen erwähnten Seuchen verschiedenen Krankheitserreger hervorgerufen wird, handelt. Unser Bakterium zeigt deutliche, sowohl morphologische wie kulturelle und pathogenetische Unterschiede. Was die Form anbelangt, übertrifft unser Bakterium sowohl das ovoide Bakterium wie auch das Kernsche an Größe; kulturell unterscheidet es sich in der Bouillon durch Bildung von feinen Flocken, auf der gewöhnlichen Kartoffel wie auch auf der Glycerinkartoffel durch das Ausbleiben des Wachstums. Hühner können nicht mit ihm infiziert werden. Bei den der Infektion erlegenen Tieren findet man nekrotische Herde, welche in allen Fällen auch in der Milz vorkommen.

Von der Kernschen Kanariencholera, soweit wir die Angaben von Kern über dieselbe mit unseren Untersuchungen vergleichen konnten, unterscheidet sich unsere Kanarienseuche dadurch, daß die Bouillonkulturen nicht wie die der Kernschen Kanariencholera gleichmäßig getrübt sind, auf der Kartoffel kein Wachstum wahrzunehmen ist, im Zuckeragar keine Gasblasen entstehen. Auch der von Kern beobachtete durchdringende Geruch seiner Kulturen fehlt. Während mit unserem Bakterium Tauben, Meerschweinchen und Kaninchen letal infiziert werden können, sind Tauben gegen die Kernsche Kanariencholera immun, Meerschweinchen gehen erst in 50 Tagen an der Infektion zu Grunde.

Was die Angaben über die Riecksche Kanarienseuche anbelangt, so differieren sie mit den typischen Eigenschaften unserer Infektion darin, daß unser Bakterium kürzer ist, keine Eigenbewegung zeigt, in der Bouillon keine gleichmäßige Trübung hervorruft und auf der Kartoffel nicht wächst. Auch die von Rieck beschriebene charakteristische „rußartige Verfärbung der Haut“ wurde bei unserer Infektion nie beobachtet. Während Rieck die Milz stets unverändert sah, war sie in

Uebersichtstabelle II.

	Hühnercholera [1]	Kernsche Kanarienseuche	Riecksche Kanarienseuche	
Formanordnung	Kurze Stäbchen, 1 μ lang, 0,25 μ breit, an den Enden etwas abgerundet. Färben sich charakteristisch, wachsen zu Scheinfäden aus	Kurze Stäbchen	1,2—2,5 μ lange Bakterien	0,5 μ breites und 1—2 μ langes Bakterium. Bildet keine Verbände
Beweglichkeit	Nicht beweglich	Nicht beweglich	Lebhaft beweglich	Nicht beweglich
Wachstum Platten (Agar)	Kleine, runde, weißliche, durchscheinende, wenig erhabene Kolonieen	Mohngroße, deutlich markierte, erhabene Kol. Durchdringender Geruch	Scharf konturierte, fein gekörnte Kolonieen. Aeltere Kolonieen zeigen Ringe	Gelblich-graue, durchscheinende, nicht konfluierende, scharf abgegrenzte, grobgranulierte, zieml. erhabene, koherente Kol. Verbr. keinen Geruch
Bouillon	Diffuse Trübung	Trübung, verteilbarer Bodensatz	Gleichmäß. Trübung	Bildung von feinen Flocken
Schräger Agar	Weißlicher, glänzender Ueberzug	Weißer Streifen mit gezacktem weißen Rande	?	Gelbl.-weißer Belag, im Kondenswasser kleine Flocken, später Bodensatz
Kartoffel	Bei gewöhnl. Temperatur kein Wachstum. Bei Brüttemperatur in einigen Tagen gelblich-grauer, durchscheinender Rasen	Ueppiger, schmutzig-weißer, gelbl. Rasen	Gelbgrauer Belag	Kein Wachstum
Gelatine (Stich)	Nicht verflüssigt. Zarter Faden	Nicht verflüssigt. Im Stich weiße Pünktchen	Zusammenhängender Faden	Nicht verflüssigt. Zarter Faden
Zuckeragar	Keine Gärung, keine Gasbildung	Vergoren mit Gasbildung	?	Keine Gasblasenbildung
Milch	Gerinnt nicht	?	?	Gerinnt nicht
Schnelligkeit des Wachst.	Langsam	Schnell	Schnell	Schnell
Sporenbildung	Keine	Keine	?	Keine
Temperaturverhältnisse	Gedeiht bei gewöhnlicher Temperatur und bei Körpertemperatur	?	?	Bei gewöhnlicher Temperatur und bei Körpertemperatur
Luftbedürfnis	Aërob	?	?	Aërob
Verhalten zu Anilinfarbstoffen	Polfärbung. Gram-negativ	Gram-negativ	Gram-negativ	Gleichmäßig mit allen Anilinfarbstoffen. Gram-negativ
Pathogenität	Hühner, Tauben, Sperlinge, Fasanen und andere Vögel sterben in 1—2 Tagen. Mäuse und Kaninchen auch empfänglich	Kanarien, Sperlinge, Distelfinken, Hänflinge sterben in 3—6 Tagen, Meerschweinchen in 50 Tagen. Tauben und Hühner unempfindlich	Kanarien, Tauben, Sperlinge, weiße Mäuse empfindlich	Kanarien, Sperlinge, Zeisige, Tauben, weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen empfindlich. Hühner reagieren nicht
Sektionsbefund	Hämorrhagische Enteritis. Hämorrhagieen in der Lunge, oft Pneumonie. Hämorrhagieen unter dem Epi- u. Endocardium. Im Blute zahlreiche Bakterien	Darmwand verdickt (Geschwür). Submucosa gelbsulzig infiltriert, hauptsächl. im Duodenaltrakte. Auch Hämorrhagieen. Hämorrhagieen in der Lunge und am Herzmuskel	Rußartige Verfärbung der Haut, akute Enteritis. Nekrosen in der Leber. Niemals Milzveränderung. Zahlreiche Bakterien im Blute	Nekrotische Enteritis. Nekrotische Herde in der Leber und in der Milz. Wenig Bakterien im Blute

---

[1] Nach James Eisenberg, Bakt. Diagnostik.

allen unseren Fällen von natürlicher Erkrankung und auch bei den Versuchstieren von nekrotischen miliaren Herden durchsetzt. In den Rieckschen Fällen waren zahlreiche Krankheitskeime im Blute zu finden, in unseren Fällen waren sie dagegen entweder schwer oder nur spärlich mikroskopisch nachweisbar.

Aus diesen Gründen sehen wir uns veranlaßt, die von uns beobachtete und untersuchte Infektion von den bisher beschriebenen, oben angeführten infektiösen Krankheiten der Kanarienvögel als eine selbständige, typische, durch ein besonderes eigenartiges Bakterium hervorgerufene seuchenartige Erkrankung zu trennen.

Am Schlusse erlaube ich mir, hiermit Herrn Dozenten Dr. Rud. Hartl für die liebenswürdige Ueberlassung des ursprünglichen Materials und für seine Ratschläge bei der Untersuchung desselben im bakteriologischen Laboratorium an der tierärztlichen Hochschule in Wien und Herrn Prof. Dr. Theodor Kasparek für seine Unterstützung und Hilfe bei der Ausarbeitung des bakteriologischen und experimentellen Teiles, welche ich nach meiner Uebersiedelung nach Prag in seinem Institute durchführte, meinen wärmsten Dank abzustatten.

Literatur.

1) Friedberger und Fröhner, Lehrbuch d. speziellen Pathol. u. Therapie. Bd. II. p. 464 u. 577.
2) Kern, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XXII. 1896. p. 171.
3) Klee, Baumgartens Jahresbericht. Bd. IX. 1893. p. 447.
4) Nocard et Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. 2. édition. p. 12, 33, 34.
5) Rieck, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XV. 1889. p. 69.

Nachdruck verboten.

Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern.

[Institut für allgemeine Pathologie zu Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig).]

Von Dr. **N. Tiberti,**
Privatdozent für Bakteriologie an der k. Universität Florenz.

Mit 1 Tafel.

I. Das Tetanustoxin.

Bekanntlich erzeugen die Tetanusbacillen ein spezifisches Gift, das im stande ist, beim Menschen und bei einigen Tieren ein Krankheitsbild hervorzurufen, welches durch schmerzhafte tonische Krämpfe charakterisiert wird; letztere beginnen in einzelnen Muskelgruppen und gehen allmählich in fortschreitendem Maße auf den ganzen Körper über.

Dieses, auch unter dem Namen Tetanospasmin bekannte Gift ist ein wahres Toxin im Sinne Ehrlichs, d. h. ein Gift, das zwei Atomgruppen besitzt, eine haptophore Gruppe, vermittelst welcher es sich auf dem Protoplasma der Zellenelemente festsetzt, und eine toxophore Gruppe, vermittelst welcher es seine zerstörende Wirkung entfaltet.

Dieses ist aber nicht das einzige Toxin, das der Tetanusbacillus erzeugt; es existiert noch ein anderes, das eine deutlich ausgesprochene auflösende Wirkung auf die Erythrocyten ausübt und den Namen Tetanolysin hat.

Das Tetanospasmin oder das eigentliche Tetanustoxin wird durch die Tetanusbacillen entweder an der Einimpfungsstelle im lebenden Organismus erzeugt oder auf künstlichen Nährböden, von denen es zuerst Knud-Faber im Jahre 1890 erhielt. Er filtrierte durch Porzellanfilter Bouillonkulturen von Tetanusbacillen und erhielt eine vollkommen amikrobische Flüssigkeit, die in kleinen Dosen im stande war, bei den für Tetanus empfänglichen Tieren dieselben Erscheinungen hervorzurufen wie die Inokulation einer vollständigen Kultur des Nicolaierschen Bacillus. Knud-Faber bestätigte also die vorher durch Nicolaier aufgestellte Hypothese, daß der Tetanusbacillus in situ ein lösliches Gift erzeugen müsse, dessen Verbreitung die für den Tetanus charakteristischen Erscheinungen hervorriefe.

In demselben Jahre isolierten Kitasato und Weyl, Brieger und Fränkel fast gleichzeitig aus Kulturen des Tetanusbacillus ein Toxalbumin, das sie als ein in Wasser lösliches Gift erkannten. Die Arbeiten von Tizzoni und Cattani, Vaillard, Vincent und Rouget, die nacheinander veröffentlicht wurden, trugen viel zur Erkenntnis der Eigenschaften und der chemischen Natur dieses Toxins bei.

Vaillard und Vincent erhielten ein mit sehr großer Wirksamkeit ausgestattetes Toxin, indem sie eine 18 Tage alte Bouillonkultur von Tetanus filtrierten und eine neue Aussaat auf diesem Nährboden machten, nachdem sie zuvor weitere Nährflüssigkeit hinzugefügt hatten. — Fermi und Pernossi sahen, daß Kulturen auf Agar in einer Stickstoffatmosphäre den höchsten Grad von Giftigkeit besitzen. — Brieger und Cohn erhielten ein äußerst wirksames Toxin, als sie dem Nährboden den alkoholischen Niederschlag einer alten Typhuskultur oder verfaulten Fleisches hinzusetzten.

Desbrand erzielte dieselbe Wirkung dadurch, daß er den Tetanusbacillus zugleich mit dem Bacillus subtilis züchtete.

Das Tetanustoxin ist außerordentlich empfindlich gegen physische und chemische Agentien und verliert beim Aufbewahren sehr schnell einen großen Teil seiner ursprünglichen Giftigkeit.

Das diffuse Licht ist an und für sich für das Tetanusgift von geringer Schädlichkeit; sehr schädlich gestaltet sich seine Einwirkung in Gegenwart des Sauerstoffes der Luft, der das Gift in kurzer Zeit bedeutend abschwächt; letzteres wird nach Kitasato durch das Sonnenlicht in 15—18 Stunden vernichtet. Die filtrierten Kulturen müssen deshalb im Dunkeln und unter Luftabschluß aufbewahrt werden; dafür sorgt man gewöhnlich dadurch, daß man vor der Sterilisierung in die Rezipienten eine dünne Oelschicht hineinbringt; diese schwimmt auf der Oberfläche der Flüssigkeit und schützt das Toxin sehr gut.

Das Tetanustoxin ist ferner sehr empfindlich gegen die Einwirkung der Wärme (Vaillard, Kitasato, Marie), der Elektrizität (Fermi und Pernossi), des Alkohols (Tizzoni und Cattani), der oxydierenden Substanzen (auch sehr verdünnte Kaliumpermanganatlösung). der unter Druck befindlichen Kohlensäure (Roux und Vaillard), der meisten Säuren und des Jodtrichlorürs. — Eine $^1/_{500}$ Jodlösung wirkt auf eine ganz eigentümliche Weise, indem sie die immunisierenden Eigenschaften des Toxins durchaus nicht verändert. Hier handelt es sich ohne Zweifel um eine schnelle Zerstörung der toxophoren Gruppe des Giftes, mithin um die Bildung von Toxoid.

II. Empfänglichkeit der Tiergattungen gegenüber dem Tetanustoxin.

Die Toxizität des Tetanusgiftes schwankt sehr je nach den verschiedenen Tiergattungen, namentlich wenn es subkutan injiziert wird. Die Versuchstiere können auf folgende Weise in Klassen eingeteilt werden hinsichtlich ihrer Empfänglichkeit für das Tetanustoxin, wenn man die Menge Toxin in Betracht zieht, die zur Tötung des Tieres erforderlich ist, ohne die Gewichtsunterschiede zu berücksichtigen: weiße Maus, Meerschweinchen, Kaninchen, Frosch (unter besonderen Umständen), Einhufer, Hund, Taube, Huhn. — Zieht man dagegen, statt die Dosis zu berücksichtigen, welche im stande ist, ein Tier zu töten, diejenige in Betracht, welche erforderlich ist, um 1 g des Tieres zu töten, so ändert sich die Reihenfolge der Empfänglichkeit. So bemerkt Knorr, indem er von der Dosis spricht, die 1 g Pferd tötet, dieses Tier sei das empfänglichste von allen. Nimmt man die Dosis, welche 1 g Pferd tötet, als Einheit an, so sieht man, daß um 1 g Meerschweinchen zu töten, die doppelte Menge Toxin erforderlich ist, 1 g Ziege die 4fache, 1 g Maus eine 13mal größere Quantität Toxin, 1 g Kaninchen eine 2000mal größere Menge Toxin.

III. Wirksamkeit des Tetanustoxins mit Rücksicht auf die Inokulationsstelle.

Die Wirksamkeit des Tetanustoxins ist eine sehr verschiedene mit Rücksicht auf die Inokulationsstelle. So zeigt nach Tizzoni und Collina die subkutane Injektion beim Kaninchen eine viel größere Wirkung als die im Kreislauf oder unter der Dura ausgeführte. Dieselben Dosen Gift, welche die Kaninchen in 3—5 Tagen töten, wenn sie subkutan injiziert werden, zeigen sich unzulänglich oder führen den Tod einige Tage später herbei, wenn sie zur Injektion ins Gehirn verwendet werden. Um dieselben Wirkungen durch Injektionen in den Kreislauf zu erzielen, sind 2—3mal größere Dosen erforderlich als diejenigen, welche hinreichen, um das akute Krankheitsbild des Tetanus und den Tod nach 4 Tagen herbeizuführen, wenn man sie unter die Haut injiziert. Im allgemeinen jedoch erhöht sich die Wirksamkeit des Toxins ganz beträchtlich, wenn es in das Spatium subdurale oder in das Gehirn injiziert wird. Beim Huhn z. B., das ziemlich unempfänglich gegen den Tetanus ist, gelingt es ganz leicht, Tetanuserscheinungen vermittelst intracerebraler Injektionen von Toxin hervorzurufen.

Das auf gastrischem Wege auch den für dasselbe empfänglichen Tieren beigebrachte Tetanustoxin bleibt ohne irgendwelche Wirkung. — Ransom nahm an, daß es unverändert durch den Darm hindurchgehe und glaubte es in den Faeces wiedergefunden zu haben, was aber von Carrière nicht bestätigt wurde, auch nicht nach Darreichung starker Dosen von Toxin auf dem Verdauungswege. Im Gegenteil, er wies nach, daß das auf diesem Wege beigebrachte Toxin durch die Speicheldiastase unwirksam gemacht wird; eine geringere Wirkung auf das Toxin übt das Pepsin aus, eine etwas beträchtlichere das Trypsin. Die Verdauungssäfte (Galle, Pankreassaft) zeigen eine bemerkenswerte neutralisierende Wirkung und eine besondere das Gift zerstörende besitzt nach Vincenzi die Galle der vom Tetanus befallenen Tiere.

IV. Vorhandensein des Tetanustoxins im Blute.

Wenn man einem Tiere subkutan Tetanustoxin einimpft, so geht letzteres schnell in den Kreislauf über, verschwindet jedoch daraus wieder in verhältnismäßig kurzer Zeit, namentlich bei den für Tetanus empfänglichen Tieren. Marie behauptet, das Tetanustoxin sei im Blute des Kaninchens 18 Stunden nach der Inokulation nicht mehr nachweisbar, und Blumenthal bemerkte, es sei nicht mehr möglich, es deutlich nachzuweisen beim ersten Auftreten der Tetanuserscheinungen, selbst dann nicht, wenn man beträchtliche Dosen von Toxin verwendet habe. 2 ccm Blut von einem schwere Tetanuserscheinungen zeigenden Kaninchen riefen, als sie einer Maus unter die Haut inokuliert wurden, keine Krankheitserscheinung hervor. Bruschettini traf Tetanustoxin an im Blute von an Tetanus gestorbenen Menschen wie auch in den inneren Organen (Leber, Milz, Nieren). In diesen nämlichen Organen wurde von Immerwahr konstant bei den von Tetanus ergriffenen Kaninchen das Tetanustoxin angetroffen.

Camara Pestana traf das Tetanustoxin an im Blute der an Tetanus leidenden Kaninchen; vom Blute aus wird es dann auf die Lungen, Nieren, die Milz und namentlich die Leber übertragen und setzt sich in ihnen fest.

Behring, Kitasato und Brunner sahen, daß das Blut sowie das seröse Transsudat der Brusthöhle der mit Tetanustoxin geimpften Tiere sich konstant als toxisch erwiesen.

Stern fand das Blut giftig in 2 Fällen von Tetanus puerperalis und Nissen erhielt ebenfalls positive Resultate mit dem Blute von Tieren, die vom Tetanus befallen waren; dagegen erhielt Kohlmeyer stets negative Resultate.

Stintzing beobachtete, daß, während bei Mäusen die Inokulation des Blutes von an Tetanus leidenden Tieren konstant wieder Tetanus hervorrief, das Blut der an Tetanus leidenden Menschen niemals irgend eine Erscheinung von Tetanus erregte. Das nämliche Resultat erhielten Moritz, Engelmann, Henoch und Tauber. Nur Blumenthal gelang es, Tetanus hervorzurufen, indem er Blut eines an Tetanus leidenden Menschen injizierte. Nach der Ansicht dieses Autors findet man das Tetanustoxin im Blute der an Tetanus leidenden Menschen stets in sehr geringer Menge. Die oft erhaltenen negativen Resultate hängen von den geringen Mengen von Blutserum ab, die man verwendet hat. Um ein positives Resultat zu erhalten, muß man bei der Maus 2—6 ccm Blutserum vom Menschen injizieren.

Im Laufe dieses Studienjahres wurde in die medizinische Klinik zu Florenz ein an traumatischem Tetanus leidender Mann aufgenommen; der Fall war kein schwerer und endete mit der Genesung des Patienten. Das Blutserum dieses Kranken inokulierte ich 3 Mäusen und 2 Meerschweinchen, aber ich konnte bei keinem der geimpften Tiere die geringste Erscheinung von Tetanus wahrnehmen.

V. Vorhandensein des Tetanustoxins im Zentralnervensystem.

Das Tetanustoxin wurde von zahlreichen Forschern mit verschiedenem Erfolg beharrlich in den zentralen Nervenorganen gesucht. Von den alten fruchtlosen Inokulationsversuchen des Zentralnervensystems bei den mit Tetanus behafteten Tieren sind zu erwähnen die von Nocard, Kirmisson, Scamel und Pollaillon. Von den in neuerer Zeit mit negativem Erfolg angestellten Untersuchungen wollen wir an die von Kitasato und Camera Pestana erinnern.

Positive Resultate infolge Inokulation von Substanz aus zentralen Nervenorganen von mit Tetanus behafteten Tieren erhielten Verhoogen und Baert, Eduardo F. Plâ, Lingard, Shakspeare, Sanchez-Toledo und Veillon (nur in einigen Fällen), Immerwahr, Brunner und Bruschettini; der letztere brachte die sichersten Beweise herbei für die Giftigkeit der zentralen Nervenorgane.

Daß die Versuche, vermittelst Inokulationen von Teilchen des Nervensystems den Tetanus zu erregen, bald gelungen sind und bald nicht, erklärt sich vielleicht durch die von Wassermann gefundene Tatsache, daß das normale Gehirn und das Rückenmark antitoxische Eigenschaften besitzen. Außerdem muß man bedenken, daß die zur Inokulation dienende Nervensubstanz nicht immer von einer gewissen Menge Flüssigkeit der Gewebe frei ist. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Tetanusgift auch im Rückenmark vorhanden ist, wenn es sich in genügender Menge im Organismus befindet. So fand Blumenthal es im Rückenmark von Meerschweinchen, wenn er das 200fache der tödlichen Dosis des Giftes injizierte; bei geringeren Dosen fand er es nie.

In der cerebrospinalen Flüssigkeit, die er vermittelst Lendenpunktion in 2 Fällen von schwerem Tetanus beim Menschen erhalten hatte, konnte Stintzing das Vorhandensein des Tetanustoxins nachweisen. Die Injektion dieser Flüssigkeit bei Mäusen erzeugte wieder das Krankheitsbild des Tetanus. Da es dem Autor nicht gelungen ist, bei den Mäusen vermittelst Injektion des Blutes derselben Kranken Tetanuserscheinungen zu erregen, wie oben angedeutet wurde, so nimmt er an, die cerebrospinale Flüssigkeit enthalte das Tetanustoxin in wirksamerer Form und verhältnismäßig in stärkerer Konzentration als das Blut. Er meint, es sei beim Toxin eine größere Affinität vorhanden zu der Flüssigkeit, welche die Nerven und das Rückenmark bespült als zum Blute. Bei einem dritten klinischen Fall von Tetanus, den derselbe Forscher mitteilt, ergab die Injektion von cerebrospinaler Flüssigkeit bei Mäusen ein negatives Resultat. Aber der Fall war ein sehr leichter und die bakteriologische Diagnose zu stellen war nicht möglich gewesen.

Blumenthal fand das Tetanustoxin nicht in der Cerebrospinalflüssigkeit bei einem Falle von Tetanus puerperalis und bei der Ziege. — Ransom führte intravenöse Injektionen von Tetanustoxin beim Hunde aus und suchte danach in der cerebrospinalen Flüssigkeit. Die mit der letzteren geimpften Mäuse zeigten nur Spuren von Tetanus, vielleicht weil bei der Entnahme der cerebrospinalen Flüssigkeit sich etwas Blut darunter gemischt hatte. Aus diesen Experimenten schließt Ransom, daß nach intravenöser oder subkutaner Injektion wenig oder gar kein Gift in der cerebrospinalen Flüssigkeit erscheint, auch wenn die Dosis des injizierten Giftes sehr stark war: „mithin kann man nicht annehmen, daß das Tetanustoxin den Weg der Cerebrospinalflüssigkeit nimmt, um zu den Zellen des Nervensystems zu gelangen.“

VI. Vorhandensein des Tetanustoxins im Harn.

Die Frage des Vorhandenseins des Tetanustoxins im Harn ist eine sehr strittige. — Bruschettini gelang es, durch den Harn eines an Tetanus leidenden Mannes Tetanus zu erregen. Kartulis, Jacob, Knorr, Marie, Courmont und Doyon u. a. sahen nie im Harn bei natürlichem Tetanus das Toxin erscheinen. Kartulis jedoch beobachtete das Vorhandensein des Tetanustoxins im Harn bei experimentellem Tetanus nur bei Anwendung starker Dosen von Toxin (20 ccm filtrierter Bouillon). — Auch Charrin konnte einige Male das Tetanustoxin nachweisen im Harn von Kaninchen, denen auf experimentellem Wege Tetanus eingeimpft war.

Goldberg stellt das Vorhandensein von Tetanustoxin im Harn der Kaninchen in Abrede, wenn man auch 40 ccm filtrierter Bouillonkultur von Nicolaierschen Bacillen injiziere.

In letzter Zeit nahm Blumenthal das Thema wieder auf und wies nach, daß bei Tieren, denen man Tetanustoxin injiziert hat, das letztere sehr schnell aus dem Blute verschwindet, aber nicht mit dem Harn ausgeschieden wird. Das Gift setzt sich in den Organen fest, die nach der Besredkaschen Methode behandelt (d. h. mit physiologischer NaCl-Lösung emulsioniert), das Vorhandensein von Tetanustoxin in ihnen zu erkennen geben. Die meisten anderen Organe zeigen sich in schwächerer Weise toxisch als das Nervensystem; nur die Milz besitzt eine größere toxische Kraft.

Im Verlauf meiner Experimente inokulierte ich öfters normalen Mäusen und Meerschweinchen den Harn von tetanischen Meerschweinchen und Kaninchen, ohne jemals irgend eine Erscheinung von Tetanus zu beobachten. Auch der Harn des oben erwähnten Patienten, bei Mäusen in einer Dosis von 2 ccm, bei Meerschweinchen in einer solchen von 4—6 ccm eingeimpft, ergab mir stets negative Resultate.

In der Milch von tetanischen Ziegen konnte das Tetanustoxin nachgewiesen werden.

In der Galle wurde es von Vincenzi gefunden,

VII. Beziehung des Tetanustoxins zum Zentralnervensystem.

Das Tetanospasmin übt eine elektive Wirkung auf die Zellen des Zentralnervensystems, namentlich des Rückenmarkes aus und alle funktionellen Erscheinungen der Vergiftung, die Zunahme der Reflexe und die tonischen Kontraktionen der Muskeln sind abhängig von dieser Vergiftung des Rückenmarkes.

Die direkten Beziehungen des Tetanustoxins zu den Zellen des Zentralnervensystems wurden zum ersten Male beobachtet von Shakspeare, Verhoogen und Beart, welche Tiere vermittelst subduraler Injektion von Substanz aus dem Zentralnervensystem tetanischer Tiere vergifteten.

Besredka ließ eine lange Zeit hindurch Gehirn vom normalen Meerschweinchen in Berührung mit einer großen Menge Toxin im Eisschranke stehen und entfernte den Ueberschuß von freiem Toxin vermittelst sorgfältiger Waschung. Mit diesem Brei konnte er Tetanus auf Mäuse übertragen.

Goldscheider, Flatau, Joukowsky u. a. konnten die Wirkung des Tetanustoxins auf die Ganglienzellen, namentlich des Vorderhirnes, direkt unter dem Mikroskope nachweisen.

Wassermann und Takaky sahen, als sie sehr kleine Bruchstücke von Zentralnervenorganen von Meerschweinchen, Kaninchen und Pferden in Tetanustoxin enthaltende Flüssigkeiten eingetaucht aufbewahrten, daß die letzteren ihren ganzen Gehalt an Toxin verloren und vollständig unwirksam blieben.

Ransom injizierte einigen Tauben beträchtliche Mengen Tetanustoxin und suchte dann nach dem Toxin selbst in verschiedenen Organen; er beobachtete, daß Emulsionen von Gehirn und Rückenmark kein toxisches Vermögen besaßen, weil das Toxin, mit dem sie in Berührung gekommen waren, durch die Zellenelemente, aus welchen diese Organe bestehen, festgehalten und neutralisiert worden war. Außerdem beobachtete er, daß keine Intoxikation stattfand, wenn er für Tetanus empfänglichen Tieren Mischungen von Tetanustoxin und Emulsion aus Nervenorganen normaler Tiere injizierte.

Wassermann erklärte diese Resultate als eine experimentelle Bestätigung der Seitenkettentheorie. Dieselben Rezeptoren, welche im Gehirnbrei und im lebenden Gehirn im stande sind, das Gift zu fixieren, sind auch diejenigen, welche als freie Rezeptoren im Blute zirkulieren.

Aus der außerordentlich großen Affinität des Tetanustoxins zum Nervensystem ergeben sich sehr wichtige Folgerungen, unter denen die hauptsächlichste in der Schwierigkeit besteht, die Verbindung des Toxins mit den betreffenden Rezeptoren, wenn sie einmal zustande gekommen ist, zu zerstören, d. h. in der Schwierigkeit, den Tetanus zu heilen. Mit jeder Stunde, die seit dem Beginn der Vergiftung vergeht, wird die Fixierung des Toxins eine beständigere und die Einwirkung des Serums eine geringere. In der Tat wurde bei Heilversuchen am Menschen mehrmals nachgewiesen, daß nach Auftreten der Tetanuserscheinungen, resp. nach Ablauf des Inkubationsstadiums auch kolossale Dosen von Antitoxin im allgemeinen nichts mehr helfen.

Wir können nicht mit Bestimmtheit sagen, welches in den für das Gift empfänglichen Zellen die Teile sind, welche die Moleküle des Tetanustoxins anziehen. Behring glaubt jedoch, daß diese Teile sowohl im Kern als im Cytoplasma zu suchen sind und daß in letzterem auch gewisse granulöse Teile, die wahrscheinlich das Aequivalent der Trophoplasten (Arthur Meyer) der Pflanzenzellen sind, das Gift fixieren können.

Uebrigens kann man, wenn man auch annimmt, daß die Ganglienzellen des Rückenmarkes es sind, die direkt von dem Tetanustoxin ergriffen werden, den Fall nicht ausschließen, daß auch andere Nervenelemente haptophore Gruppen darbieten, die für dieses Toxin geeignet sind. So sahen Roux und Borrel, als sie Tetanustoxin unter der Dura mater des Gehirns injizierten, wie es ausschließlich auf den Gehirnzellen fixiert wurde und sich so das Bild des sogenannten Tetanus cerebralis darbot.

Bei Kaninchen ist es leichter, Erscheinungen tetanischer Intoxikation durch intercerebrale Injektion als auf subkutanem Wege hervorzurufen. Bekanntlich läßt sich ebenfalls das Huhn, das gewöhnlich so wenig empfänglich für das Tetanustoxin ist, leicht durch intercerebrale Injektion vergiften.

Daß außer den im Zentralnervensystem gelegenen Ganglienzellen noch andere Elemente existieren, die im stande sind, die Einwirkung des Tetanustoxins zu erleiden, ist auf verschiedene Arten nachgewiesen worden. Dönitz und Mjyamoto beobachteten, daß bei Kaninchen das Tetanustoxin unter gewissen Umständen so eifrig von anderen haptophoren Gruppen fixiert werden kann, die nicht diejenigen der Zellen des Zentralnervensystems sind, daß das Tier erliegt, ohne Kontrakturen zu zeigen (Tetanus ohne Tetanus).

Behring nimmt als notwendig die Hypothese an von dem Vorhandensein anderer Zellenkörper, die außer den Ganglienzellen des Zentralnervensystems Objekt der Reizung seitens des Tetanustoxins sein könnten, wenn man bedenke, daß letzteres in relativ hoher Dosis im stande sei, Exsudate zu erzeugen. In der Tat bemerkt man das Auftreten reichlicher Exsudate unter der Haut und zuweilen in Körperhöhlen, wenn dem Toxin der Weg zum Zentralnervensystem durch das zirkulierende Antitoxin verschlossen ist und dem Tiere Dosen eingeimpft werden, die im stande sind, die Krankheit hervorzurufen, aber nicht den Tod.

Aus dieser Tatsache schließt Behring, das Tetanustoxin greife auch andere Zellen an, namentlich die zum vasomotorischen Apparat gehörigen. Er beobachtete, daß ganz besonders bei erwachsenen Kaninchen haptophore Gruppen für das Tetanustoxin vorhanden sind in den Zellen der Wände kleiner Gefäße; damit muß in Zusammenhang stehen das Vorhandensein einer Diastase, die eine spezifische Wirkung auf das Tetanustoxin ausübt und die man in der Extraktflüssigkeit der fein zerriebenen Lungen von Kaninchen findet.

VIII. Wege, auf denen das Tetanustoxin zu den Nervenzentren gelangt.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Stelle, an der das Tetanustoxin sich mit Vorliebe festsetzt, die Zellen des Zentralnervensystems sind, namentlich aber die motorischen Zellen des Rückenmarkes, auf die es seine Wirkung ausübt. Auf welchem Wege aber gelangt das Tetanustoxin von seiner Entstehungsstelle aus, resp. von der Stelle aus, wo es injiziert wurde, zu den Nervenzentren? Diese Frage war es, deren Lösung zahlreiche Forscher erstrebten, aber die ersten in dieser Hinsicht bemerkenswerten Untersuchungen waren die von Bruschettini, der durch eine Reihe von Experimenten nachwies, daß das Tetanustoxin sich nicht nur durch das Blut, sondern auch durch die Nervenbahnen verbreitet. Die Lendenschwellung erwies sich in der Tat als toxisch in einigen Fällen nach Injektion von Toxin unter die Haut eines Gliedes und erwies sich stets als toxisch, wenn das Toxin in den Nervus ischiadicus injiziert wurde.

Bruschettini folgert aus seinen Experimenten, daß das Tetanustoxin ähnlich dem Virus der Tollwut sich dem Nervensystem entlang, nicht nur durch das Blut verbreite, und zwar sowohl bei direkter Einimpfung des Toxins in die Nerven als auch unter die Haut.

Camara Pestana nimmt an, der Uebergang des Tetanustoxins ins Zentralnervensystem geschehe einzig und allein durch das Blut. Tizzoni und Cattani sahen, als sie das Tetanustoxin direkt einem Nervenstamm einimpften, daß klassische Tetanuserscheinungen hervorgerufen wurden; logischerweise folgerten sie daraus, daß das Tetanustoxin vermittelst der Nervenstämme in die entsprechenden Abschnitte des Rückenmarkes geleitet werden müsse. Wie jedoch bekanntlich das Toxin durch subkutane Injektion zu den Nerven gelangt, so kann es auch bei intraneuraler Injektion wieder zurückfließen und auf anderem Wege zu den Nervenzentren gelangen. Mithin wäre nach Gumprecht der positive Erfolg der Inokulation in die Nerven kein entscheidender Beweis für die Fortleitung des Toxins längs der Nerven selbst.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie.

I. Ueber das Dysenteriegift.

Von Dr. **H. Lüdke.**

Um den Organismus gegen die Mikroorganismen wie gegen die Gifte derselben zu schützen, sind mannigfache Versuche unternommen, die im wesentlichen die Ausarbeitung der wirksamen Komponenten des Bakterienleibes einerseits, andererseits die Erzeugung hochgiftiger extracellulärer Toxine im Auge hatten.

Zur Erwerbung aktiver Immunität suchte man möglichst virulente Bakterienkulturen heranzuzüchten, wobei man als natürlichen Maßstab die Tiervirulenz in Betracht zog. So — um nur ein Beispiel anzuführen — hebt Wright bei seinen im südafrikanischen Feldzug erworbenen Erfahrungen über aktive Immunisierung gegen Typhus den Wert virulenter Kulturen hervor, verhehlt jedoch die unangenehmen Nebenwirkungen nicht, die nach Einverleibung geringer Dosen lebender Kulturen eintraten, wie Kopfschmerzen, Uebelkeit, Gliederreißen, Temperatursteigerungen, Infiltrate an der Injektionsstelle.

Diese störenden Nebenerscheinungen änderten sich nur wenig, als man nach den Vorschlägen Wassermanns, Kitasatos und Briegers statt lebender abgetötete Kulturen verwandte, von denen eine einmalige Injektion zur Erzeugung eines Immunserums genügte und die bei ihrer praktischen Verwendung größeren Schutz für den immunisierenden Arzt boten.

Erst in jüngster Zeit erkannte man, daß nicht die Virulenz das ausschließlich Maßgebende bei der Auslösung der immunisierenden Wirkung sei.

Es brach sich die Erkenntnis Bahn, daß nicht in dem infizierenden Agens lediglich die Ursache der Immunität auslösenden Fähigkeit gegeben sei, in Wirklichkeit spezifischen Zellen die Produktion der Immunkörper obliege.

Die Natur dieses spezifischen Zellsekretionsprozesses ist uns bislang dunkel geblieben; durch den Nachweis der Produkte der Zelltätigkeit im Serum konnte man zu neuen Erkenntnissen und Gesetzen gelangen, welche einen intimeren Einblick in den biologisch-chemischen Prozeß der Immunität gewährten und der, wie nochmals betont werden muß, sein Hauptcharakteristikum in der spezifischen Tätigkeit bestimmter Zellen hat, so beim Typhus abdominalis besonders in der Tätigkeit der blutbildenden Organe.

Ein neues Gesetz daher war es, als von Wassermann[1]) beim Typhus nicht die Virulenz als maßgebender Faktor für die Immunität hervorbringende Kraft nachgewiesen wurde, vielmehr sich zeigte, daß in der quantitativen Feststellung des Bindungsvermögens der Bakterienart für die Ambozeptoren ein weit ausschlaggebenderes Moment beruhte. Wassermann stellte sich hierbei auf den Boden Ehrlichscher Anschauungen, die in den abgestoßenen Reaktionskörpern die freien, mit spezifischer Wirkungssphäre begabten Rezeptoren der spezifischen Zellen

---

1) Wassermann, Experimentelle Beiträge zur Frage der aktiven Immunisierung des Menschen. (Festschrift für Koch. Jena [G. Fischer] 1903.)

annehmen. Es war also eine notwendige Konsequenz, daß diese spezifische Produktion von Immunkörpern im Blutserum quantitativ durch Bindung an bestimmte Stämme von größerer oder geringerer Virulenz gemessen wurde. Jedoch erscheint es mir noch zweifelhaft, hierher gehörige Befunde Strongs, der unter Wassermann arbeitete, zu verallgemeinern. Strong will keinen Unterschied in der Bindungsfähigkeit der empfindlichen Zellen irgend einer Tierart gesehen haben, sondern in proportionalem Verhältnis wurde die gleiche Quantität Ambozeptoren aus dem Serum unterschiedlicher Tiere absorbiert. Der adäquate Reiz kann aber selbst bei der gleichen Art auf differenzierte, individuell schwankende Verhältnisse in den sezernierenden Zellbezirken stoßen; vielmehr noch ist dies bei differenten Arten der Fall, so daß ich die Resultate Strongs nicht als allgemeingültige auffassen kann.

Wir müssen uns des Grundsatzes, daß nur den spezifischen Zellen des Organismus eine für adäquate Reize eingestellte Sekretionsfunktion gegeben ist, auch bei den Antitoxinen bewußt bleiben.

Auch bei der Antitoxinproduktion haben wir es mit einer spezifischen Qualität des Protoplasmas zu tun, die je nach der Tierrasse, den allgemeinen Ernährungsverhältnissen, der Empfindlichkeit der sezernierenden Zellen und der Ausbildung der Toxizität der Bakterien variiert werden kann.

Anfänglich sah man nun darauf, ein möglichst kräftiges und reichliches Toxin zu erhalten, was bei den beiden Infektionskrankheiten, bei denen es gelang, ein besonders wirksames Toxin zu produzieren — Diphtherie und Tetanus — der Fall war. Bei der bacillären Dysenterie, die das Thema dieser Mitteilung bilden soll, sind bisher nur wenige Versuche zwecks einer Toxingewinnung angestellt worden.

Beginnen wir mit Untersuchungen des Entdeckers des Bacillus dysenteriae in Deutschland, Kruse[1]), so finden wir in einer seiner Arbeiten die Behauptung aufgestellt, daß von dem Dysenteriebacillus keine besonders kräftigen Toxine gebildet würden. Ihm stimmt Conradi[2]) zu, der weder bei subkutaner, noch intraperitonealer, noch intravenöser Injektion größerer Mengen von 8, 14 oder 30 Tage alten Bouillonkulturfiltraten den Tod der behandelten Meerschweinchen oder Kaninchen eintreten sah. Zu gleichen Resultaten kamen Vaillard und Dopter[3]). Große Mengen von Bouillonkulturfiltraten töteten nach ihren Angaben Kaninchen bei intraperitonealer Injektion nicht. Auf dem natürlichen, bisher gebräuchlichen Wege der Toxingewinnung war demnach eine Ausbeute nicht zu erwarten. Verf., der verschiedene Tage alte Kulturen weißen Mäusen und Kaninchen injizierte, konnte sich von der Richtigkeit der vorigen Angaben überzeugen.

Es wurde nun ein weiterer Weg eingeschlagen, das Toxin dieses Bacillus darzustellen; Conradi gab hier als erster das Verfahren der aseptischen Autolyse an. Etwa 20 Stunden alte Dysenteriekulturen werden von der Agaroberfläche abgekratzt, mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und 1—2 Tage bei 37° C gehalten. In die Lösung gehen dabei die wirksamen Substanzen über, und nach der Filtration durch Tonkerzen und Einengen im Vakuumapparat erhält man das in Wasser lösliche Gift, das zu 0,1 ccm ein Kaninchen in etwa 24 Stunden tötete.

---

[1]) Kruse, Die Blutserumtherapie bei der Dysenterie. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 1.)

[2]) Conradi, Ueber lösliche, durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Typhus- und Dysenteriebacillen. (Ibid. No. 2.)

[3]) Vaillard et Dopter, La dysenterie épidémique. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1903. No. 7.)

Shiga und Neisser[1]) verfolgten das gleiche Prinzip, nur mit der praktischen Verbesserung, daß sie filtrierte Hitzeextrakte benutzten. 0,5—0,2 ccm dieser filtrierten Aufschwemmung töteten Kaninchen innerhalb 2 Tagen.

Rosenthal[2]) in Moskau schlug noch einmal den alten Weg der natürlichen Gewinnung von Toxinen ein. In schwach alkalischer, bei 37 ° C gehaltener, ca. 3 Wochen alter Martinscher Bouillon erzielte er ein Toxin, von dem 0,2—0,1 ccm filtrierter Kultur genügte, um ein 2 kg schweres Kaninchen bei subkutaner Injektion in 24—48 Stunden zu töten. Das klinische Bild entspricht hierbei der Infektion mit Bakterien: Parese der Hinter- und Vorderbeine, häufige Stuhlentleerungen, starkes und rasches Sinken der Körpertemperatur, rapide Gewichtsabnahme, Kollaps. — Unter den pathologischen Erscheinungen heben wir besonders, in Uebereinstimmung mit unseren Befunden, dies hervor: Blähung des Dickdarmes, stellenweise hämorrhagische Infiltrationen und oberflächliche Nekrose desselben. Starke Blasendehnung. Rosenthal gibt noch eine Hyperämie des Duodenum und Füllung desselben mit schleimigen, mitunter blutig-schleimigen Massen an. Für eventuelle therapeutische Zwecke wichtig ist das Resultat Rosenthals, daß er mit dem Serum dieser mit seinem Toxin behandelten Tiere einen Schutz gegen die Infektion mit Bacillen erreichte.

Wir stoßen nach diesen Darstellungsweisen des Dysenteriegiftes also auf die beiden, bisher geltenden Anschauungen über die Gewinnung löslicher Toxine aus Bakterien, die in weiteren Grenzen dem Prototyp des Bact. typhi zugehören. Nach den erwähnten Befunden scheint hier beim Bact. dysenteriae die schroffe Gegenüberstellung von Endotoxin und löslichem Sekretionsprodukt nicht am Platze zu sein. Wir haben scheinbar die Möglichkeit, das Dysenterietoxin als bloßes Sekretionsprodukt und als Endotoxin zu erhalten, während wir nach der allgemeinen Anschauung bisher nur von einer Darstellung der Endotoxine hier reden dürfen.

Rodet, Lagriffoul und Wahby[3]) scheint es nach einer kürzlich mitgeteilten Nachricht gelungen zu sein, mittelst recht junger, gut alkalischer Bouillonkulturen eine Toxizität der Kulturfiltrate auch von Bact. typhi in allerdings relativ großen Dosen zu erzielen. Nach dem erscheint es — bei oberflächlicher Betrachtung wenigstens — nicht mehr zweifelhaft, daß es auch bei Bact. typhi gelingt, ein Toxin als Sekretionsprodukt in die Bouillon zu erhalten, falls man junge Kulturen und genügenden Luftzutritt verwendet. Die auf dem Filter gesammelten Bakterien waren nämlich nach obigen Autoren nicht giftiger als das Filtrat, so daß sie von der Ansicht, das Bact. typhi besitze nur in seinem an dem Protoplasma haftenden intracellulären Endotoxin seine Giftigkeit, abkommen mußten. Jedenfalls bleibt bisher immer noch die Schwierigkeit bestehen, den dem Bact. typhi inkorporierten beträcht-

---

1) Shiga und Neisser, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)

2) Rosenthal, Das Dysenterietoxin (auf natürlichem Wege gewonnen). (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 7.)

3) Rodet, Lagriffoul et Wahby, La toxine soluble de bacille d'Eberth. (Centralbl. für Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. No. 5.)

lichen Toxinanteil in die Bouillon sezernieren zu lassen, ohne daß im Prinzip die Möglichkeit einer völligen Ausbeute dieses Toxins ausgeschlossen wäre.

Eine gründliche Erweiterung der Methodik zur Gewinnung von giftig wirkenden Substanzen aus Bakterienleibern geschah in mehrfachen Publikationen von Macfadyen und Rowland[1]). Mittelst eines komplizierten, sinnreichen Apparates und bei Verwendung tiefer Temperaturen gelang es diesen Autoren, giftige Extrakte aus dem Protoplasma einzelner Bakterien zu erhalten. In Kürze ausgeführt gingen beide so vor: Die Typhusbacillen wurden in gefrorenem Zustande — durch Eintauchen in ein Gefäß mit flüssiger Luft — vermittelst eines elektrisch getriebenen Zertrümmerungsapparates zerkleinert, die Zelltrümmer in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und von der anhaftenden Materie durch sorgfältiges Zentrifugieren befreit. Mittelst dieser Zellextrakte erhielten Macfadyen und Rowland eine Giftwirkung auf den tierischen Organismus, der den der virulentesten Kultur noch übertraf. Außer Bact. typhi wurden noch aus Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, B. enteritidis (Gärtner), B. tuberculosis und B. diphtheriae gleiche toxische Zellflüssigkeiten gewonnen.

Meine bisherigen Versuche über die Gewinnung solcher toxischen Produkte aus Bakterienleibern erstreckten sich auf den Dysenteriebacillus Kruse.

Da mir ein derart komplizierter Apparat, wie ihn Macfadyen und Rowland benutzten, leider nicht zur Verfügung stand, versuchte ich mittelst manueller Zerreibung von mit flüssiger Luft übergossenen Bakterien eine möglichste Zertrümmerung derselben herbeizuführen. In jüngster Zeit wurden, nachdem ich meine Versuche bereits begonnen hatte, von Bassenge und Mayer im Centralbl. für Bakteriol. etc. Bd. XXXVI. 1904. No. 3 ähnliche Versuche zur Gewinnung eines Typhustoxins angestellt; diese Versuche verliefen jedoch ohne größeren Erfolg: weder die Giftigkeit der so gewonnenen Zellsäfte war eine der Angabe Macfadyens entsprechende, auch die antitoxische und bakterizide Kraft des Serums der mit diesem Gift behandelten Kaninchen war eine ganz unerhebliche.

Ich führe die von mir angewandte Methodik hier etwas ausführlicher an: Versuche, die ich zunächst in den Farbenfabriken zu Elberfeld, vorm. Fr. Bayer & Co. mit der dankenswerten Unterstützung Herrn Chemikers Wesenberg ausführte und die eine Zerreibung der Bakterien in einer durch flüssige Luft geführten Kugelmühle bezweckten, schlugen fehl.

Darauf wurden zu verschiedenen Malen Versuche unternommen, durch manuelle Zertrümmerung der Ruhrbakterien im Mörser das Ruhrendotoxin zu erhalten. Diese Versuche mußten mit der größten Vorsicht unternommen werden, da ich zum Teil lebende Bakterien verwandte; es blieb dabei nicht aus, daß Verf. sich infizieren mußte und etwa 10 Tage lang die unangenehmen Symptome einer leichteren Ruhrerkrankung zeigte.

Agarkulturen in kleinen und großen Petri-Schalen, Kolleschen

---

[1]) Macfadyen and Rowland, Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1903.) — Ueber das Vorkommen und den Nachweis von intracellulären Toxinen. [Eigenbericht über den der 75. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte gehaltenen Vortrag.] (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 40.)

Flaschen (in einer Fläche von ca. 100—250 qcm) wurden mit einem von Herrn Prof. Kruse-Bonn freundlichst überlassenen Ruhrstamm, von dem $^1/_{20}$ Agarkultur ein mittelschweres Kaninchen in 48 Stunden tötete, geimpft und etwa 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C gelassen. Danach wurde der Rasen mit möglichst wenig steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und die Aufschwemmung im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur getrocknet; es resultierte eine blätterige, splitterige, graugelbliche Masse. Die Quantitäten derart getrockneter, vorher noch durch langes, sorgfältiges Zentrifugieren von beigemischten Agarpartikelchen befreiten Bakterienmasse waren stets außerordentlich gering, meist etwas mehr als 0,1 g. Diese getrockneten Bakterien wurden öfter mit flüssiger Luft übergossen und mit dem Pistill mit Anwendung stärksten manuellen Druckes zerrieben, so lange, bis im mikroskopischen Präparat nur noch ganz vereinzelte intakte Ruhrbacillen sichtbar waren. Die so erhaltene Bakterienmasse wurde danach mit etwa 20—40 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zur Befreiung von bei diesen Prozeduren etwa hineingelangten Keimen durch die Pukallzelle filtriert. Schließlich wurde eine wasserhelle, sterile Flüssigkeit erhalten, die zur Injektion tauglich schien.

In meinen bisherigen Versuchen wurde eine größere Anzahl von Tieren, meist Kaninchen, mit diesen sterilen Zellflüssigkeiten injiziert und zwar in der Regel intravenös. Dabei erhielt ich im wesentlichen stets dieselben Resultate.

0,5—0,2 ccm dieser gifthaltigen Flüssigkeit genügten, um 1500 g schwere Kaninchen in etwa 18—24 Stunden zu töten; 0,1 ccm verursachte in einigen Fällen innerhalb 48 Stunden den Tod der Versuchstiere, in anderen Fällen rief diese Injektion ein außerordentlich charakteristisches Symptomenbild hervor, das dem Krankheitszustand nach Injektionen lebender oder abgetöteter Ruhrbacillen analog war. Das beste Resultat erhielt ich bei einer intravenösen Injektion von 0,05 ccm Zellflüssigkeit, die den Tod des Tieres in 36 Stunden nach sich zog. Einige Meerschweinchen, die 0,5—0,1 ccm intraperitoneal erhielten, starben ebenfalls in einem Zeitraum von 1 bis höchstens 2 Tagen. Ratten von etwa 175—200 g Gewicht starben nach noch kürzerer Zeit.

Im allgemeinen schien nach meinen Befunden eine zwischen 0,1 bis 0,05 ccm liegende Dosis geeignet, ein kräftig entwickeltes Kaninchen mit allerdings sehr schweren Gesundheitsschädigungen am Leben zu erhalten. Die klinischen Erscheinungen vor dem Exitus und nach subletalen Dosen waren diese: Konstant war eine intensive Abmagerung der Versuchstiere, die bei Tieren von ca. 1200 g bisweilen innerhalb 2—3 Tagen bis zu 200 g betrug. Ebenso regelmäßig trat ein starker Temperaturabfall ein, der auf meist 2—3° C kam. Durchfälle waren nur bei einer kleinen Anzahl von Tieren zu konstatieren. Lähmungen der Extremitäten, zunächst der hinteren, traten nach ca. 18—24 Stunden auf.

Wir sehen also, daß die klinischen Erscheinungen genau den Symptomen entsprechen, die bei Injektionen lebender oder abgetöteter Bakterien eintreten. Die Sektionen ergeben dieses Bild: An den serösen Häuten wurden im großen und ganzen wenig Veränderungen bemerkt, seltener einzelne hyperämische Stellen. Ein getrübtes oder blutiges Exsudat in der Bauchhöhle konnte ich nach meinen bisherigen Beobachtungen nicht finden. Die Höhlenflüssigkeiten erwiesen sich in jedem Fall als steril. Leber, Milz, Niere, Herz und die weiteren Organe wiesen makroskopisch keine Läsionen auf. Auffallender war die starke Füllung des Dünndarmes im Vergleich zu der des Dickdarmes. Hyperämie der Darmschleimhaut, in der Dickdarmschleimhaut bisweilen Blutextravasate, wurde in wenigen Fällen beobachtet, Geschwürsbildung an der Bauhinschen Klappe oder im Dickdarm selbst niemals bisher gefunden. Bei subkutanen Injektionen trat lediglich ein weiches Oedem an der Injektionsstelle auf.

Die Wirkungsfähigkeit dieser sterilen Zellflüssigkeit schien zeitlich stark begrenzt zu sein; es bedurfte nach 8-tägigem Aufbewahren der Flüssigkeiten im Eisschrank einer weit größeren Dosis zur Tötung des Tieres. Eine weitere, weit wichtigere Tatsache für eventuelle praktische Verwertung dieser gifthaltigen Zellflüssigkeiten zur Erzeugung von Immunität scheint mir aber — und darin liegt der Gegensatz zwischen meinen Resultaten und denen Macfadyens und Rowlands — darin zu liegen, daß es nach der Injektion einer subletalen, mit ausgesprochenen Krankheitssymptomen verlaufenden Dosis der gleichen Menge bedurfte, um die Versuchstiere in kürzerer Zeit zu töten. Bakterizide, wie antitoxische Qualitäten des Blutserums der behandelten Tiere konnte ich demnach nicht beobachten.

Ich will nur einige eklatante Beispiele der Toxinwirkung anführen: (Die einzelnen Injektionen wurden gleich nach der Filtration durch die Tonzelle oder gewöhnlich einen Tag später gemacht.)

Einem weißgrauen, weiblichen Kaninchen von 1150 g Gewicht, 38,4° C Temperatur, wurden intravenös 0,03 ccm Giftlösung injiziert. 2 Tage nach der Injektion betrug das Gewicht 970 g, die Temperatur 36,3° C; also eine Gewichtsabnahme um etwa 200 g, ein Temperaturabfall um ca. 2°! Außerdem war eine deutliche Parese der hinteren Extremitäten zu bemerken. Am 4. Tag war die alte Temperatur wieder erreicht, während die Gewichtszunahme nur minimal war. Nach 6 Tagen war die Parese so gut wie verschwunden. — 6 Wochen später wurden demselben Tier, das jetzt 1500 g wog und sich vollständig erholt hatte, 0,1 ccm eines neu hergestellten Giftes, dessen Toxizität dem früheren gleich kam, intravenös injiziert. Am folgenden Morgen, nach 15 Stunden, stirbt das Kaninchen, das, in Agone gewogen, ein Gewicht von 1290 g und eine Temperatur von 36,5° C aufwies (Normaltemperatur 39,2° C).

Andere Kaninchen, die mit 0,3 und 0,1 ccm einer Giftlösung intravenös behandelt wurden, starben innerhalb 24, höchstens 48 Stunden unter den Erscheinungen des Kollapses, Paresen der Hinter- und Vorderbeine, starker Temperatursenkungen, Gewichtsabnahme, heftiger Dyspnoë.

Subkutan gegeben, mußte die letale Giftdosis um ein beträchtliches erhöht werden. Bei geringeren Dosen — so 0,5—1,5 ccm — traten deutliche Symptome in Erscheinung: konstant war hier aber wieder eine stärkere Abmagerung in kürzester Frist, während die Temperaturkurven im allgemeinen nicht als charakteristisch angesehen werden konnten. Maßgebend konnten nur Temperatursenkungen sein, die in der größten Mehrzahl der beobachteten Fälle auftraten. Diese Temperatursenkungen sind demnach, wie für andere Bakteriengifte, auch für das Dysenteriegift charakteristisch, und ich wäre geneigt, in den von mir beobachteten Ruhrfällen bei Menschen die relativ niedrige Temperatur (im Durchschnitt 36,0—36,3° bei einer Pulsfrequenz von durchschnittlich 90—110 Schlägen in 1 Minute) auf eine Einwirkung des Toxins zurückzuführen. Bei kleinen Injektionsdosen traten meist geringere Temperatursteigerungen auf.

Ein erheblich wichtigeres Kennzeichen der Intoxikation bietet das Verhalten der Leukocyten. Ich will hier einen Versuch, der die Temperatur-, Gewichts- und Leukocytenkurve veranschaulicht, anführen:

Einem schwarzen, männlichen, kräftigen Kaninchen wurden am 5. Dez. 1904 1 ccm einer Lösung, die 0,05 ccm Toxin enthielt, intravenös injiziert.

5. Dez. 1904	Gewicht	2300 g	8. Dez. 1904	Gewicht	2080 g
	Temperatur	39,2° C		Temperatur	38,9° C
	Leukocyten	10 000		Leukocyten	12 400
6. Dez. 1904	Gewicht	2240 g	9. Dez. 1904	Gewicht	2140 g
	Temperatur	38,3° C		Temperatur	39,3° C
	Leukocyten	12 000		Leukocyten	20 800
7. Dez. 1904	Gewicht	2200 g	10. Dez. 1904	Gewicht	2060 g
	Temperatur	38,1° C		Temperatur	39,3° C
	Leukocyten	14 000		Leukocyten	12 000

Am 10. Dez. 1904 intravenös 1 ccm derselben Toxinlösung.

11. Dez. 1904	Gewicht	2130 g	13. Dez. 1904	Gewicht	2100 g
	Temperatur	39,1° C		Temperatur	39,3° C
	Leukocyten	20 000		Leukocyten	16 000
12. Dez. 1904	Gewicht	2080 g	17. Dez. 1904	Gewicht	2230 g
	Temperatur	39,5° C		Temperatur	39,4° C
	Leukocyten	16 000		Leukocyten	13 000

Am 17. Dez. 1904 1 ccm Toxinlösung intravenös injiziert.

18. Dez. 1904	nicht untersucht	
19. Dez. 1904	Gewicht	2200 g
	Temperatur	39,4° C
	Leukocyten	14 000

Am 19. Dez. 1904 dieselbe Dosis wie am 17. Dez. injiziert.

20. Dez. 1904	Gewicht	2280 g	21. Dez. 1904	Gewicht	2260 g
	Temperatur	39,6° C		Temperatur	39,1° C
	Leukocyten	13 200		Leukocyten	14 400

23. Dez. 1904	Gewicht	2240 g
	Temperatur	39,3° C
	Leukocyten	9200

Die Temperaturkurve bietet in diesem Falle keine besondere Abweichung. Interessanter ist die Beobachtung der Schwankungen in den Leukocytenwerten. Am 3.—4. Tage pflegte nach meinen Beobachtungen eine starke Erhöhung der Leukocytenwerte einzutreten, und zwar waren dieselben in der Regel um das Doppelte, häufig auch um das Dreifache vermehrt, um in den nächsten Tagen wieder zur Norm zurückzukehren. Nach einer neuen Injektion — der angeführte Fall erscheint weniger charakteristisch, weil stets dieselbe Giftlösung benutzt wurde — trat gewöhnlich am nächsten Tage die starke Erhöhung wieder auf, und bei weiteren Injektionen erfolgte eine nur geringfügige Vermehrung. Demnach war die neutralisierende Fähigkeit des Blutserums an Stelle der phagocytären Reaktion getreten. Im gefärbten Präparat — genauere Zählungen wurden erst in einer für eine gültige Erklärung zu geringen Anzahl bisher ausgeführt — fiel die starke Vermehrung der eosinophilen Formen auf, die den polynukleären neutrophilen beim Menschen entsprechen. In wenigen Fällen gelang es, Leukocytenzählungen während der Agone zu veranstalten. Hier erfolgte, was von anderen Autoren speziell bei Pneumonie ausgeführt wurde (Limbeck und A. Fränkel) eine intensivste Herabsetzung der Leukocytenwerte, eine deutliche Hypoleukocytose. Jedenfalls können solche Leukocytenbefunde niemals schematisiert werden; ich führte deshalb nicht das prägnanteste Beispiel einer sehr starken Hyperleukocytose an; in der allergrößten Mehrzahl von mittelstarken Injektionsdosen pflegte jedoch der erwähnte Befund in Erscheinung zu treten.

Man stößt zuweilen auch auf Fälle, in denen das Leukocytenzahlbild nur wenig verschoben, wo die Reaktion nur eine geringfügige ist. Andererseits stehen mir zwei extreme Blutbilder zur Verfügung, wo nach Injektion einer subletalen Dosis eine rapide Herabsetzung der Leukocyten schon nach 6 Stunden eintrat, nach 3 Tagen nur noch 240 weiße Blutscheiben im Kubikmillimeter gezählt wurden. Zugleich war damit eine starke Temperatursenkung, Parese der Hinterbeine und — was seltener zu Gesicht kam — Darmkatarrh aufgetreten. In den nächstfolgenden 3 Tagen erfolgte ein allmähliches Steigen der Leukocytenwerte, um am 4. Tage nach dem starken Abfall einer außerordentlichen Hyperleukocytose Platz zu machen.

Von einem charakteristischen Leukocytenzahlblutbild konnte nur, ganz allgemein betrachtet, die Rede sein: indem bei stark wirkenden Dosen zunächst eine Herabsetzung, danach eine Steigerung der Zahlenwerte, bei mittleren bis geringen Dosen gleich eine weniger prägnante Steigerung eintrat.

Demnach erscheint es für eine eingehendere Erkenntnis der hämatologischen Verhältnisse geboten, weniger auf die Zahl und Mischungsverhältnisse der einzelnen Leukocytenformen Gewicht zu legen, als vielmehr auf morphologische Veränderungen in ihrer Struktur, speziell ihrer Kernformen, wie dies zuerst durch die interessanten Untersuchungen J. Arneths[1]) an den neutrophilen Leukocyten bei Infektionskrankheiten geschehen ist.

Außer den reaktiven Prozessen an den Leukocyten untersuchte ich in der Mehrzahl der Fälle des Agglutinationsvermögen des Blutserums der behandelten Tiere. Vielleicht treten hier meine Beobachtungen in Kontrast mit den von Macfadyen und Rowland gemachten Befunden. In fast allen Fällen erhielt ich, im Gegensatz zu Macfadyen und Rowland, in den ersten Tagen nach erfolgter Einspritzung keine Erhöhung des Agglutinationstiters des Serums der Kaninchen und Meerschweinchen. Wahrscheinlich beruhte dieses Fehlen der Agglutination hier darauf, daß von mir nicht ganz frische Lösungen injiziert wurden, ferner, daß es nur relativ schwer gelingt, gerade Kaninchen eine höhere Agglutinationsfähigkeit des Serums gegenüber dem Bact. dysenteriae zu verleihen. Aehnliche Beobachtungen machte P. Th. Müller[2]) bei Injektionen lebender und abgetöteter Dysenteriekulturen. Nur in zwei Fällen gelang es, nach 2 Wochen ein mäßig starkes Agglutinationsvermögen zu erzielen. Untersuchungen über die bakterizide Schutzwirkung des Serums von mit Ruhrgift behandelten Tieren stehen noch aus, werden aber in Bälde folgen. In Analogie mit den Untersuchungen Macfadyens und Rowlands ist aber auch bei dieser Bakterienart eine Bildung von spezifischen Ambozeptoren anzunehmen.

Anders scheint es sich mit der Bildung von Antitoxinen zu verhalten:

Experiment I.

Einem grauen, weiblichen, 1050 g schweren, gutgenährten Kaninchen werden 0,1 ccm einer Toxinlösung intravenös injiziert. Das Tier bleibt nach schwerer Erkrankung, die sich wieder in Temperaturabfall, Abmagerung, Paresen der Hinterläufe äußerte, am Leben. Nach etwa $2^1/_2$ Wochen, nachdem völliges Wohlbefinden, normale Temperatur, Gewichtszunahme eingetreten war, wurden wieder 0,1 ccm einer frischen Giftlösung eingespritzt. Nach etwa 20 Stunden starb das Tier unter den Erscheinungen des Kollapses, tiefer Temperatur, rapiden Gewichtsverlustes, Lähmungen, stärkster Dyspnoe.

---

[1]) Arneth, Die neutrophilen weißen Blutkörperchen bei Infektionskrankheiten. Jena (G. Fischer) 1904.

[2]) Müller, P. Th., s. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. No. 12.

Experiment II.

Ein silbergraues, weibliches, 2300 g schweres Kaninchen erhält 0,05 ccm einer frischen Giftlösung intravenös. Das Tier erträgt ohne allzu starke Krankheitserscheinungen den Eingriff gut und wird mit derselben Giftlösung 3 Tage darauf wieder eingespritzt. Nach ca. 16 Stunden liegt das Tier in Agonie.

In anderen Experimenten erhielten wir ähnliche Resultate. Ich muß jedoch von vornherein betonen, daß nur mittelst frischen Giftlösungen der Exitus der Versuchskaninchen bei einer zweiten Injektion, die der ersten an Giftkonzentration entsprach, herbeigeführt werden konnte. Wie Experiment I zeigt, war zwischen beiden Injektionen ein relativ großer Zwischenraum, so daß eine vollständige Wiederherstellung des Kaninchens vorausgesetzt werden konnte. Die Untersuchung der Gewichtsverhältnisse, Temperatur, Leukocyten ergab auch einen entsprechenden Befund. Trotzdem ging das Tier an der gleichstarken, zweiten Giftlösung innerhalb 24 Stunden zu Grunde. Ich muß demnach den Satz aufstellen, daß eine Antitoxinproduktion in diesen Fällen von Injektion der Giftlösungen des Bact. dysenteriae Kruse bei Kaninchen, sofern diese Giftlösungen bei jedem Injektionstermin frisch verwandt werden, nicht zu stande kommt.

In letzter Zeit, während ich meine Untersuchungen vollendete, erschienen die interessanten Mitteilungen A. Wolffs[1]) über Endotoxine, die ähnliche Resultate nicht allein für Bakteriengifte, sondern auch jedes körperfremde Eiweißgift angeben.

Wir müssen, nach unseren bisherigen Erfahrungen wenigstens, einen prinzipiellen Unterschied zwischen den von einzelnen Bakterien sezernierten Stoffwechselprodukten, den echten Toxinen, und den am Protoplasma haftenden, wahrscheinlich die Individualität des Bakterium ausmachenden Giften, den Endotoxinen, machen.

Gemeinsam ist beiden Giften die Löslichkeit und Durchgängigkeit durch Filterkerzen. — Der Vorgang des Freiwerdens beider Gifte ist grundverschieden: Toxine werden einfach in die Bouillon sezerniert, Endotoxine konnten bisher lediglich nur durch künstliche Autolyse gewonnen werden, oder sie werden in der Peritonealhöhle auf Einwirkung von Normal- oder Immunserum frei.

Zur Autolyse ist jedenfalls auch, wie Wolff meint, das Vorkommen von giftig wirkenden Bouillonkulturfiltraten von B. typhi, B. dysenteriae zu rechnen.

Die Angaben Rodets, Lagriffouls und Wahbys über ein in die Nährflüssigkeit sezerniertes Typhustoxin und die Rosenthals über das Dysenterietoxin sind also meines Erachtens in dem Sinne zu ergänzen, daß wir es hier nicht mit reinen Toxinen, sondern mit Endotoxinen zu tun haben.

Fassen wir am Ende unsere bisherigen Erkenntnisse über die Bakterienendotoxine zusammen: Zunächst liegt in der verbesserten Methodik der Giftdarstellung, die von Macfadyen und Rowland angegeben

---

[1]) Wolff, A., Untersuchungen über einige Immunitätsfragen. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 42/43.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

wurde, ein wesentlicher Vorteil, indem es gelingt, möglichst reine, lösliche Giftextrakte zu erzielen.

Von weiterem Nutzen erscheint auch der Umstand, daß derartige, lösliche Bakterienextrakte schneller tödlich wirken als die virulenteste Bakterieninfektion, so daß deren toxisches Prinzip damit zum vollen Ausdruck kommt. Die bisherigen Methoden, den Preßsaft der Bakterien in genügender Konzentration und Wirkungsfähigkeit zu gewinnen, sind so übertroffen. Die Wirkung auf die Immunkörper produzierenden Organe ist hier eine weit schnellere und intensivere, als bei Anwendung ganzer Zellen, so daß hier durch den spezifischen Reiz dem Zellprotoplasma die spezifische Direktion erteilt, eine exzessive Zelltätigkeit angeregt wird, d. h. eine erfolgreiche Abstoßung von Rezeptoren erfolgen kann.

Im Grunde genommen ist in den Versuchen Macfadyens und Rowlands, wie denen von Conradi, Neisser und Shiga eine gewisse Uebereinstimmung gegeben, indem beide Parteien das physiologische Vorbild, die Auflösung der ganzen Zellen innerhalb des Organismus und das Freiwerden des gifttragenden, löslichen, den Zellen charakteristischen Substrats, außerhalb des Tierkörpers imitierten.

Diskutabel erscheint mir vorerst noch die Frage, ob es unmöglich ist, ein antitoxisches Serum gegenüber den Endotoxinen zu gewinnen. Es wäre immerhin denkbar, mittelst möglichst kleiner Dosen oder mit abgeschwächten endotoxinhaltigen Lösungen doch vielleicht ein Antiendotoxinprodukt zu erhalten.

Von Wolff ist allerdings in jüngster Zeit darauf hingewiesen, daß wir mittelst der Endotoxine nicht dem Organismus ein Blutserum schaffen können, das imstande ist, bei der Injektion von Bakterien losgelöste Endotoxine zu neutralisieren. Der Haupteffekt der Einverleibung von endotoxinhaltigen Flüssigkeiten besteht nach Wolff lediglich in der Auslösung von Ambozeptoren, die ihrerseits bei einer neuen Infektion mit Bakterien neue Endotoxine aus diesen Bakterien frei werden lassen.

Nach den Befunden Macfadyens und Rowlands wie Rosenthals scheint jedoch die Möglichkeit, ein Serum mit bakteriziden und antitoxischen Eigenschaften zu erzielen, nicht gänzlich ausgeschlossen; es scheinen daher jedenfalls dahingehende Versuche am Platze zu sein.

Herrn Dr. med. Markwald, Leiter der bakteriologischen Untersuchungsstation der Stadt Barmen, danke ich ergebenst für die freundlichst gewährte Ueberlassung der Hilfsmittel des Instituts.

Nachdruck verboten.

Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals.

Von Dr. **G. Bruini.**

Mit 15 Figuren.

(Schluß.)

Bacillus No. 13 wurde nur 1mal aus 6-tägigem Kot isoliert, ist unbeweglich, gerade, mißt 2—3 $\mu \times 0{,}5\ \mu$ und besteht nicht selten aus 2 Elementen oder Fäden. An den Enden ist er abgerundet. Die Färbung geschieht mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch mit Gram.

Zuweilen finden sich jedoch auch Bacillen, die sich schlecht färben. Sporen habe ich nie beobachtet.

Er entwickelt sich auf allen Nährböden, nur nicht im Serum. Auf der Kartoffel bildet sich eine Einhöhlung mit weißlicher Patina, die nachher gelbbraun und zuweilen in der Mitte goldgelb wird. Die Milch gerinnt. Auf dem Agar entsteht eine ausgedehnte, dünne, weißliche Patina. In der sehr getrübten Bouillon ein leichter Schleier an der Oberfläche und nach einiger Zeit ein Bodensatz.

Bei 37° C wächst der Bacillus stark, ist absoluter Aërobe, entwickelt kein Gas und nur wenig Alkali (0,06 g auf 100 g) und ist weder für Meerschweinchen noch für Mäuse pathogen.

No. 14, Streptothrix, wurde 2mal isoliert, das erste Mal aus dem Kote eines 8-tägigen Kindes, das andere Mal aus dem eines 6-tägigen.

Sie zeigt in der Bouillon wellenförmige, glatte, lange Fäden, im Agar dagegen viel häufiger gewundene. Die Dicke der Fäden ist je nach dem Alter derselben verschieden, die neuen Verzweigungen sind immer dünner als der Ast, von dem sie ausgehen, ihre Dicke schwankt zwischen 0,1—0,5 μ (s. Fig. 13). Viele Aeste gehen von den Hauptfäden aus und verzweigen sich nicht selten von neuem.

Zuweilen gehen von den Fäden andere am Ende keulenartig verdickte Fäden aus und nicht selten sind diese keulenförmigen Gebilde derart gruppiert, daß sie dann den gekeulten Entartungsformen der Tuberkulose stark ähneln. Diese Gebilde wurden in den Kulturen der gewöhnlichen Nährböden ohne Anwendung jedes besonderen Züchtungsmittels beobachtet.

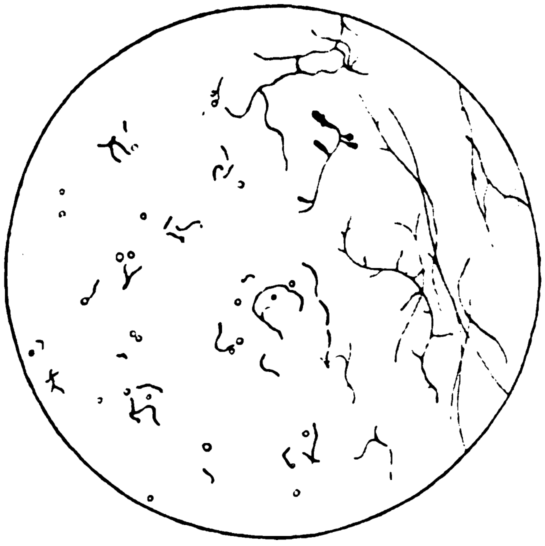


Fig. 13.

Die Färbung gelingt mit allen Anilinfarben gut, ebenso mit Gram. Einige Fäden bleiben zuweilen fast farblos, an ihrer Dicke erkennt man sie als auf dem Wege der Involution begriffene Filamente, mehrmals dagegen bleiben nur ganz kurze Strecken farblos und nicht selten erblickt man im Innern des Fadens Serien von runden Pünktchen, die viel mehr gefärbt sind als die Fäden und vielleicht das erste Anzeichen einer Sporenbildung darstellen. Sporen sind wahrscheinlich auch die in den Fäden beobachteten Unterbrechungen, wenngleich diese letzteren länger und nicht so groß und so glänzend sind, wie die sonst frei beobachteten Sporen. Die freien Sporen sind rund, farblos oder leicht koloriert und haben ca. 0,8 μ im Durchmesser. Wahrscheinlich hat man da eine Gliedersporenbildung und eine Endsporenbildung.

Die Streptothrix wächst auf allen Nährböden, nur nicht auf dem Serum. Sie koaguliert die Milch nicht. Auf der Kartoffel erzeugt sie runde Kolonieen mit einem ca. $^1/_2$ cm großen, erhabenen und von einem aschgrauen, glatten Hof umgebenen weißlichen Zentrum. Die alten

Kolonieen nehmen eine braune Farbe an und zeigen nur da vollständig weiße Stellen, wo sich die von den hochständigen Fäden gebrachten Sporen angehäuft haben.

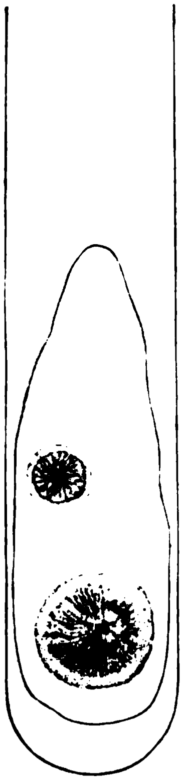


Fig. 14.

Auf Agar finden sich runde, gelbliche Kolonieen, von denen einzelne vollständig mit weißem Staube bedeckt sind, und so den Glauben erwecken, daß sie von einem weißen, strahlenartig gefurchten Häutchen überzogen seien; um dieses herum findet sich ein kleiner farbloser Hof (s. Fig. 14). Betrachtet man die Kolonie bei schwacher Vergrößerung, so erkennt man deren strahligen Bau leicht, denn man erblickt da viele von der Mitte nach der Peripherie laufende und sich dabei verästelnde Fäden. Zweimal wurden gerade Strahlen wahrgenommen, die vom Rande aus wie feinste Kanälchen in das Zentrum eindrangen.

In der Bouillon beobachtet man sehr deutliche, im hellen Medium unter Form von kleinen Flocken schwimmende Kolonieen, die dann niederstürzen und eine weiße nebelhafte Masse bilden. Nach ungefähr 12 Uebertragungen ist das Wachstum der Streptothrix verringert; sie entwickelt sich dann unter Form von Bacillen weiter ohne die Streptothrix-Form wieder anzunehmen; diese Bacillen haben keine besondere Form, messen 2—4 × 0,5 μ und haben ovale Sporen.

Die Streptothrix ist ein absoluter Aërobe, erzeugt weder Gas noch Alkali oder Säure, ist unbeweglich, entwickelt sich bei 37° nicht und ist weder für Meerschweinchen noch für Mäuse pathogen.

No. 15. Streptothrix wurde zweimal isoliert, einmal aus dem Kote eines 4-tägigen Kindes, ein anderes Mal aus 5-tägigem Kote. Sie ist aus verästelten 0,2—0,5 μ messenden Fäden zusammengesetzt, die sich mit den Anilinfarben gut färben (s. Fig. 15) und auch auf Gram reagieren. Freie, runde Sporen von ca. 1 μ Durchmesser finden sich vor.

Bei Innesten in Bouillon bei 37° entwickelte sie sich aber unter Form eines geraden, wellen- oder zickzackförmigen 2,5—5 × 0,3—0,5 μ messenden Bacillen, nicht selten auch unter Form von Fäden. In 1-tägiger Bouillonkultur fanden sich lange, farblose (wahrscheinlich von der Uebertragung bei 58°) Filamente, in deren Innerm die vorbeschriebenen Bacillen reihenweise vorhanden sind.

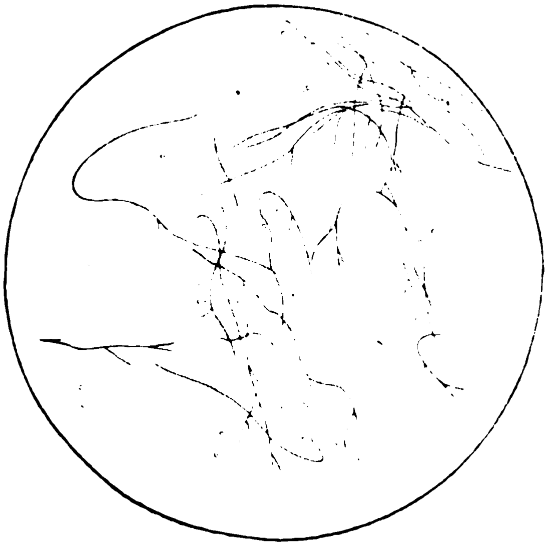


Fig. 15.

Auf der Kartoffel entwickelt sie eine feine, gelblich-weiße Patina, die fast der Farbe des Mediums gleichkommt und sich nur durch eine

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

etwas blassere Farbe unterscheidet; auch fehlen einige weiße Punkte nicht.

In Glycerinagar wächst eine sehr feine, farblose, dem Mittel anhaftende Patina hervor; weder in einfachem Agar noch in Serum wurde Wachstum beobachtet. In Fleischbrühe entstehen flockenähnliche, im Mittel schwimmende Kolonieen, die sich dann als weiße, nebelhafte Masse am Boden ansammeln. Die Milch gerinnt nicht. Die Streptothrix entwickelt kein Gas, ist unbeweglich, erzeugt aber Säure, und zwar 0,09 g auf 100 und ist absoluter Aërobe.

Alles zusammenfassend, gelangt man zu folgendem Ergebnis:

1. Es wurden 6 Arten thermophiler Mikroorganismen, 3 Streptotricheen und 3 Sorten Bacillen isoliert, von denen nur einer mit einem anderen aus dem Kote Erwachsener isolierten übereinstimmt.
2. Nur einer der Bacillen zeigte sich nicht sporenerzeugend.
3. Bei 37° entwickelten sich 3 Bacillenarten und 2 Streptothricheen unter Form von Bacillen.
4. Alle reagieren auf Gram.
5. Alle sind absolute Aërobien.
6. Keiner ist pathogen.
7. 4 Kotproben gaben nicht die geringste Entwickelung.

Vergleicht man nun die Resultate mit denen Tsiklinskys, so ergeben sich nicht unbedeutende Unterschiede.

In Paris und Moskau:	In Turin.
1. 48 Prüfungen gaben 20 Sorten isolierter Mikroorganismen: 18 Bacillen, 2 Streptotricheen.	Auf 20 Prüfungen kommen 15 Arten isolierter Mikroorganismen: 10 Bacillen und 5 Streptothricheen.
2. Es wurden 12 absolute und 9 fakultative thermophile Bakterien isoliert.	Dagegen 6 absolute und 9 fakultative thermophile Bakterien.
3. Alle Arten der absoluten thermophilen Bakterien (mit Ausnahme von einem einzigen) sind absolute Aërobien und die fakultativen thermophilen sind fakultative Aërobien.	Sowohl die absoluten wie die fakultativen thermophilen Bakterien sind absolute Aerobien.
4. Die Mikroorganismen wachsen auf Kartoffeln nicht.	Sie wachsen darauf so gut, daß man die Kartoffel für ihr bestes Züchtungsmittel erklären muß.
5. 11 Arten wurden ein einziges Mal, 6 zweimal, 1 dreimal, 1 viermal und 1 andere fünfmal vorgefunden.	9 Arten wurden ein einzigen Mal, 5 zweimal, keine dreimal ermittelt.
	Keines der isolierten Bakterien gleicht den in Moskau und Paris isolierten.

Die thermophilen Bacillen in der Natur.

Wie kann es Bakterien geben, die sich bei 58° C und darüber entwickeln, während doch solche Temperaturen in der Natur äußerst selten und nur vorübergehend vorkommen?

Gerbig vermutet, daß sich diese Mikroorganismen in den oberen Schichten des Bodens aufhalten, woselbst die Sonne durch ihre Wärme die zu ihrem Wachstum notwendige Temperatur erzeuge.

Gegen diese Vermutung können jedoch verschiedene Einwendungen gemacht werden.

1. Es ist nicht zu leugnen, daß die Sonne zu diesem Wachstum der thermophilen Bakterien genügen kann (Sames), doch kann die erforderliche Temperatur nur in einer sehr kurzen Periode des Jahres herrschen.

2. Es müßten somit die Sporenformen diejenigen sein, die die Arten erhalten, doch sind die Sporen der thermophilen Bacillen nicht

so widerstandsfähig wie die der anderen Bakterien, und sterben leicht, besonders aber bei Temperaturfall (Sames), somit können sie also doch schwerlich der ziemlich lange anhaltenden Kälte unseres Klimas widerstehen.

3. Es ist nicht erwiesen, daß alle thermophilen Bakterien Sporen treiben. Cohn hält es für möglich, daß diese Bacillen dank der Selbsterhitzung der Baumwolle, des Düngers, des Heues, Strohes, Weizens und Tabaks existieren können.

Die Temperatur jedoch, die in trockenen Heu-, Stroh- und Weizenhaufen erreicht werden kann, hängt immer von den Schwankungen der Außentemperatur ab, deren höchste beim Heu nach Bonelli 23° erreicht, beim Stroh weniger. Nur wenn Gärung oder Fäulnis eintritt, können hohe Temperaturen obwalten.

In den gesunden Silos steigt die Temperatur bis auf 70°, in den Düngerhaufen einige Tage nach der Anhäufung bis auf 70° und 80° C, bei der Gärung der Tabakblätter bis zum Maximum von 55° C[1]).

In den Baumwollenballen herrscht, solange keine Fäulniserscheinungen eintreten, keine erhöhte Temperatur.

Hohe Temperaturen finden sich also in diesen Materialien nur dann vor, wenn ein Gärungs- oder Fäulnisprozeß stattfindet. In diesen Fällen glaube ich an das Vorhandensein von thermophilen Bakterien.

Schillinger glaubt, daß sie sich bei normaler Temperatur gut entwickeln, und daß ihre Widerstandsfähigkeit sie dazu befähigt, sich bei hoher Temperatur einige Generationen hindurch zu vermehren, dagegen spricht jedoch die Tatsache, daß viele dieser Bakterien, in normale Temperatur versetzt, nicht wachsen, während sie doch, eben weil sie ihre normalen Lebensbedingungen wiedergefunden haben, noch viel kräftiger wachsen müßten.

Fräulein Tsiklinsky ist der Ansicht; daß es sich hier um weiter nichts als Varietäten der gewöhnlichen, nicht thermophilen Mikroben handle, die alle von demselben Stamme ausgegangen sind, der entweder nicht thermophil oder, was wahrscheinlicher, thermophil war und sich somit dann entweder die thermophilen Bakterien langsam an die hohen Temperaturen oder aber die gewöhnlichen Mikroben sich an die niederen Temperaturen gewöhnt hätten.

McFadyean, Blaxall und L. Rabinowitsch glauben, daß diese Bakterien bei eintretender Fermentation, die in der Natur oft mit hoher Temperaturentwicklung vor sich geht, sehr wohl geeignete Lebensbedingungen vorfinden können, daß diese Fermentation dann von den gewöhnlichen Mikroorganismen der Fäulnis hervorgerufen werde und daß diese sekundär bei den Fermentationen einwirken, eine Ansicht, der ich mich vollständig anschließe.

Hinsichtlich ihres Ursprungs sind meiner Meinung nach die thermophilen Mikroben Bakterien, die sich nur der normalen Temperatur angepaßt haben, aber nicht für so kurze Zeit, daß man dies für eine Generationen hindurch andauernde Widerstandsfähigkeit gegenüber hohen Temperaturen erklären könnte, und auch nicht derart, daß sie, wie Tsiklinsky glaubt, als stabile und ausschließlich thermophile Arten angesehen werden können. Die mehr oder weniger lange Dauer dieses Anpassungsvermögens ließe sie als fakultativ oder absolut thermophile Bakterien erscheinen. Ich stehe nicht an, dieses anzunehmen.

---

[1]) R. Istituto Sperimentale per la cultivazione dei tabacchti in Scafati.

1. Wegen der thermophilen Eigenschaften, die viele nicht thermophile Bacillen aufweisen.

a) in den Röhrchen, in die ich die Kotsorten einsäte, entwickelten sich viele Bacillen und Kokken, die nach den Innesten kein weiteres Wachstum zeigten. Eine Streptothrix[1]), die ich aus der Vaccine isolierte, entwickelte sich im ersten Röhrchen (in Agar) kräftig; in Agar oder anderen Nährböden bei 58° weiter übertragen, wuchs sie überhaupt nicht mehr.

b) Der Bacillus subtilis des Laboratoriums und ein anderer aus dem Králschen Laboratorium kommender wuchsen bei 58° nach der ersten und den folgenden Uebertragungen sehr gut, eine Tatsache, die übrigens schon von Dr. Tsiklinsky beobachtet worden war; ebenso der Bacillus mesentericus fuscus et vulgatus, und wahrscheinlich wird dies auch bei vielen anderen Bacillen der Fall sein.

2. Wegen der Aehnlichkeit vieler dieser thermophilen Bacillen miteinander und mit anderen nicht thermophilen.

Es wurden schon viele thermophile Bakterien beschrieben, doch glaube ich, daß man in jedem zu prüfenden Medium deren viele neue finden kann, was auch aus der Verschiedenheit der von Tsiklinsky in Paris und Moskau und von mir in Turin gefundenen hervorgeht.

Viele dieser Arten haben jedoch eine große Aehnlichkeit und nur wenige nicht gemeinsame Kennzeichen (Tsiklinsky hat 5 sich fast vollständig gleichende Arten beschrieben) und führen leicht zu der Vermutung, daß alle diese von einem nicht sehr entfernten gemeinsamen Stamme herrühren und es sich hier um eine Anpassung an besondere Verhältnisse des Milieus handle.

Zu diesem Gedanken führt auch die Tatsache, daß diese Bakterien nach vielen Uebertragungen und in verschiedenen Medien nicht allein die Züchtungskennzeichen, sondern besonders auch die Form ganz bedeutend ändern. Einige Arten, die ich zuerst vom Standpunkte der Morphologie und der Züchtungskennzeichen aus für verschieden hielt, haben zuletzt vollständig dieselbe Form angenommen.

Die Tätigkeit der thermophilen Bacillen im Darme.

Von den von Tsiklinsky nach 46 Kotprüfungen isolierten Bakterien ist nur einer 5mal, ein anderer 4mal, einer 3mal vorgekommen, während alle übrigen nur 1- oder 2mal vorgefunden worden sind.

Bei meinen 20 Kotprüfungen wurde keiner der vorgefundenen Mikroorganismen mehr als 3mal konstatiert.

Von den zu Moskau isolierten Bakterien gleicht nur einer den zu Paris isolierten. Von den meinen stimmt keiner mit denen von Paris und Moskau überein.

Es tritt somit die Verschiedenheit und Unbeständigkeit der einzelnen Arten in dieser Darmflora besonders im Vergleich mit der gewöhnlichen, normalen und sehr gleichmäßigen Flora beim Kinde und dem Erwachsenen klar zu Tage.

Diese volle Unbeständigkeit der Darmflora und der Umstand, daß die Körpertemperatur des Menschen in keiner Weise den Temperaturanforderungen dieser thermophilen Bakterien entspricht, läßt den Weg zu zwei Vermutungen offen:

---

[1]) In Agar bot sie sich dem Auge des Beobachters wie eine Patina mit gefurchter, hellbrauner Oberfläche; mikroskopisch unterschied sie sich nicht von den anderen Streptothricheen.

1. Daß nämlich diese thermophilen Bakterien nur vorübergehende Gäste des Darms seien, daß die Verschiedenheit der daselbst vorhandenen Arten direkt von den in der Luft[1]) und den Nahrungsmitteln[2]) lebenden Arten abhängen und daß sie schließlich bei den Gärungs- und Fäulnisprozessen des Darmes nicht im geringsten mitwirken. Tsiklinsky neigt zu dieser Auffassung hin, die ihre Rechtfertigung auch darin findet, daß, wenngleich sich viele Arten dieser Bakterien in den Därmen vorfinden, sie numerisch doch schwach vertreten sind. Gezählt habe ich sie allerdings nicht, wohl aber wahrgenommen, daß die Entwickelung nach Aussaat in die Röhrchen nur langsam vor sich ging, und es nur selten gelang, auf den festen Medien mehr als 2 oder 3 Kolonieen zu erblicken, obschon das Prüfungsmaterial sehr reichlich eingesät worden war.

2. Daß sie bei Kommensalismus mit anderen Mikroorganismen passende Lebensbedingungen vorfinden können, die es ihnen erlauben, auch bei niedrigerer Temperatur als der gewöhnlichen zu leben. In diesem Falle könnte ihnen eine mehr oder minder wichtige Teilnahme an den Fäulnis- oder Gärungsprozessen des Darminhaltes wohl nicht abgesprochen werden.

Welches könnte nun diese Einwirkung sein? Wahrscheinlich eine dem Organismus schadenbringende.

Denn injiziert man dem Meerschweinchen starke Dosen 3-tägiger Kulturen dieser Bacillen (1 ccm), so tritt der Tod nach einiger Zeit ein und zwar in 6—18 Tagen, je nach der inokulierten Kultur. Die Organe dieser Tiere zeigten dabei keine besonderen Veränderungen; nur bei dreien wurde je eine Hyperämie des Darmes, des Peritoneums und der Leber festgestellt. Diese Todesfälle müssen also toxischen Erzeugnissen zugeschrieben werden, die in den Kulturen existieren und von den Bakterien ausgearbeitet wurden.

Diese Mikroorganismen könnten somit als Giftstoffe ausarbeitende Bakterien im menschlichen Darm eine nicht zu gering zu schätzende Bedeutung gewinnen.

Die thermophilen Streptothricheen.

Bis heute sind verschiedene Arten von thermophilen Streptothricheen beschrieben worden. Tsiklinsky kennt deren 4, von welchen 2 dem Kote und andere 2 dem Boden entstammen. Ketzior beschreibt eine in Kloakenwasser aufgefundene. Globig eine aus dem Boden. Pretti eine ebenfalls dem Boden entstammende, Sames eine aus der Milch isolierte. Andere sind meines Wissens noch nicht aufgefunden worden.

Alle diese bieten mikroskopisch fast dasselbe Aussehen; die Dicke der Fäden schwankt zwischen 0,3—0,8 μ, doch ist auch in ein und derselben Streptothrix diese Dicke innerhalb der gegebenen Grenzen verschieden. Dagegen sind sie alle verästelt und mehr oder weniger eingebuchtet.

---

[1]) Es wurden die Agarplatten einige Zeit in dem Raume belassen, in dem sich die den Kot liefernden Kinder aufhielten, wonach ich 2 Arten sich gleichender oder wahrscheinlich gleicher thermophiler Bacillen isolierte, von denen der eine dem Bacillus No. 4 und der andere dem Bacillus No. 13 ähnelte.

[2]) Garini fand in der Milch einen thermophilen Mikroben, Russel u. Hastings einen thermophilen Micrococcus in sterilisierter Milch. Trotz verschiedener Proben mit gekochter Milch, wie solche den Kindern der Turiner Entbindungsanstalt dargereicht wird, habe ich nie ein Wachstum thermophiler Bakterien entdeckt.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Die Züchtungsmerkmale sind nicht ganz dieselben und ebensowenig ihre vitale Widerstandsfähigkeit dem Sauerstoff, den verschiedenen Temperaturen etc. gegenüber.

Ich selbst habe 5 Arten vorgefunden. Auch diese gleichen sich unter dem Mikroskop fast vollständig, so daß es schwer hält, sie überhaupt voneinander gut zu unterscheiden. Die Dicke der Fäden und der Durchmesser der Sporen schwankt bei jeder Art, da die jungen Filamente weit dünner als die alten sind.

Die Kulturen dagegen sind fast immer charakteristisch, wenngleich sie kein feststehendes unveränderliches Aussehen haben.

Streptothrix No. 8 entwickelt sich unter Form von feinsten gelblichen Wucherungen, die zuweilen angehäuft sind und wie Warzen aussehen.

Streptothrix No. 9 hat in den Agarkulturen etwas Aehnlichkeit mit der Streptothrix No. 14, doch besitzt diese die klaren konzentrischen Kreise nicht und erzeugt auch in Bouillon niemals das zellenförmige Häutchen an der Oberfläche.

Streptothrix No. 15 erzeugt in der Bouillon reichliche Flocken und wächst in Agar schlecht und unter der Form von gleichmäßiger Patina.

Streptothrix No. 12 wies bei ihrer Entwickelung keine besonderen Merkmale auf; es fanden sich da in der Bouillon die gewöhnlichen Flöckchen und die runden Kolonieen vor, die in Agar klein blieben und nach einigen Tagen zusammenflossen, sowie Trübung der Bouillon, wo es sich um Bacillenformen handelte.

Ungleich sind sie nun gerade der vorgenannten Merkmale wegen. Alle haben Kennzeichen, die von anderen nie beschrieben worden sind. Bei einigen habe ich eine sonderbare Tatsache notiert und zwar, daß sie unter dem Einflusse besonderer Umstände auch als Bacillen auftreten können.

Bezüglich der Streptothricheen hat man auch von Pleomorphismus gesprochen; dann sind die Autoren zu dem Schlusse gekommen, daß dieser Pleomorphismus nur scheinbar existiert, und man zu dem Glauben an seine Existenz gelangte, weil man hie und da in diesen Streptothricheen Ketten von Kokken erblickte, die Streptokokken vortäuschten, und kleine bacillenähnliche Fäden, die demnach nichts als aus den Sporen hervorgegangene und in Umwandlung begriffene Fäden wären.

1. Nun hat sich aber die auf 37° übertragene Streptothrix immer unter Form eines Bacillus entwickelt und nicht nur vorübergehend, denn sie behielt diese Form bei. Nach Uebertragung auf 58° kehrte die Streptothrix-Form zurück.

Streptothrix No. 14 hat sich nach vielen Uebertragungen unter Form von Bacillen entwickelt, ohne später diese Form zu verlieren.

Streptothrix No. 12 entwickelte sich gewöhnlich unter Form von Bacillen, zuweilen auch von verzweigten Filamenten.

2. ist eine Streptothrix alba beschrieben worden, die in Bacillenform wuchs und zu dem Bacillus Zopfi eine gewisse Beziehung zu haben schien.

3. ist es sehr selten, in den Kulturen mit Streptothricheen wahre Bacillenformen vorzufinden.

4. sind diese Bacillen fast immer dicker als die Fäden der Streptothricheen oder wenigstens dicker als die jungen Fäden derselben.

5. Während ich in den Streptothricheen immer runde Sporenformen

sah, habe ich in den von diesen herrührenden Bacillen nur ovale Sporen beobachtet.

Aller Wahrscheinlichkeit nach haben diese Streptothricheen zwei Arten von Sporenbildung; so ist denn nicht ausgeschlossen, daß sie verschiedenförmige Sporen erzeugen (wie dies für eine Streptothrix von Sames beschrieben wurde). In diesem Falle würden sich die einige Male in den Filamenten beobachteten runden Punkte also in die hellen Räume verwandeln und auf diese Weise die Bildung der ovalen Sporen vor sich gehen, die in ähnlicher Weise auch bei den Bacillen auftritt, die runden Sporen würden sich nur an dem Ende der hochständigen Filamente bilden.

Wenngleich nun vorbesagte helle Räume häufig sind, so habe ich in den von mir isolierten Streptothrix-Kulturen niemals freie ovale Sporen beobachtet.

Ich behalte es mir vor, diese Formveränderung und ihre Ursache, die wahrscheinlich außer der Temperatur auch vom Kulturmittel und anderen Ursachen abhängt, später noch eingehender zu studieren. Ueberdies bin ich nicht abgeneigt zu glauben, daß diese Streptothricheen hohen Temperaturen gegenüber stärker sind als die Bacillen und ihrer Form wegen geeigneter sind, sich auch unter nicht sehr günstigen Ernährungsverhältnissen ernähren zu können, sowie daß einige Bacillen unter bestimmten Umständen sich in verästelte Filamente umwandeln können.

Tatsächlich veranlassen uns:

1) das Auffinden von Streptothricheen, die zuweilen durch viele Generationen hindurch, ohne bei irgend einer Uebertragung die verästelte Form zurückzuerhalten (Streptothrix No. 14), zuweilen sprungweise und ohne zu entdeckende Ursache — wenngleich es mir schien, als ob der Wechsel in den Streptothricheen leichter auf der Kartoffel als auf anderen Nährböden statthabe (Streptothrix No. 12) — nicht selten auch unter dem direkten Einfluß der Temperatur, das Aussehen wirklicher Bacillen haben,
2) die Fadenformen, die sich so häufig als besonderes Bild vieler, gewöhnlicher Bacillen vorfinden,
3) die bei einigen Streptothricheenkulturen ohne jede künstliche Beihilfe (Streptothrix No. 14) angetroffene Keulenform, auf die man viel leichter nach besonderen Veränderungen der Nährböden stößt, und die den Actinomyces bovis in den Därmen eigen ist, eine Form, die mit den von Casagrandi und anderen beschriebenen degenerativen Formen der Tuberkulose, und den vom Diphtheriebacillus gebotenen Formen — nach Berichten und Zeichnungen von Prof. Concetti — eine große Aehnlichkeit hat, daran zu glauben und zu der Ansicht hinzuneigen, daß die Beziehungen, die zwischen Streptothricheen und Bacillen bestehen, sehr eng sind.

Literatur.

Globig, Ueber Bakterienwachstum bei 50—70°. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. III. 1888. p. 295.)
—, Ueber einen Kartoffelbacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1888. p. 332.)
McFadyean & Blaxall, Thermophilic bacteria. (Brit. Med. Journal. 1894. Vol. II. p. 644.)
— —, Journ. of Pathol. and Bacteriol. Vol. III. 1894.

Rabinowitsch, Lydia, Ueber die thermophilen Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 154.)
Garini, Studi critici speriment. sulla sterilizzazione d. latte. (Giorn. d. Soc. Igiene. No. 1.)
Schillinger, Ueber thermophile Bakterien. (Hyg. Rundschau. Bd. VIII.)
Sames, Zur Kenntnis der bei höherer Temperatur wachsenden Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. p. 13.)
Skotschko, Ueber thermophile Bakterien. (Berichte der kaukas. mediz. Gesellsch. No. 7.)
Oprescu, Studien über thermophile Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1898. p. 164.)
Miquel, Monogr. d'un bacille vivant au-delà de 70°. (Annales de microgr. T. I. 1888. p. 4—10.)
Ketzior, Ueber eine thermophile Cladothrix. (Arch. f. Hyg. Bd. XXVII. p. 328.)
Tsiklinsky, Sur la flore microb. thermoph. du canal intestinal de l'homme. (Annales Pasteur. Vol. 27. 1903.)
—, O mikrobach jinwuschich pri wisokich temperaturach. (Russ. Arch. f. Path. etc. Bd. V. 1898.
Rossi-Doria, Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell' aria. (Annali d'Igiene speriment. 1891).
Gasperini, Ricerche morfolog. e biolog. etc. (Annali d'Igiene speriment. 1892.)
Casagrandi, Sulle relazioni tra batteri proto-, meta- e paratrofi etc. (Annali d'Igiene speriment. 1901.)
Concetti, Forma actinomicotica del bac. d. difter. (Annali d'Igiene speriment. 1901.)
Russel & Hastings, A micrococcus, the thermal dead limit. of which is 76° C. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 339.)

Nachdruck verboten

Beitrag zur Trypanosomenfrage.

Von Dr. **Hans Ziemann,**
Marineoberstabsarzt und Regierungsarzt in Kamerun.

Im Anschluß an die wichtigen Mitteilungen von Herrn Geheimrat Koch „Ueber die Trypanosomenkrankheiten" in No. 47 (1904) der Dtsch. med. Wochenschr. seien mir bei dem hohen praktischen Interesse der Sache einige kurz orientierende Bemerkungen gestattet über Trypanosomenkrankheiten der Tiere in Kamerun. Die eigenartigen Verhältnisse der westafrikanischen Küste dürften eine besondere Besprechung des Materials rechtfertigen, soweit dasselbe infolge starker Inanspruchnahme und bei der Fülle der herantretenden anderweitigen Aufgaben bis jetzt gesammelt und bearbeitet werden konnte. Wo noch keine Beweise zu erbringen sind, sollen in bescheidenster Weise wenigstens die Bedenken gegen andersartige Ansichten erörtert werden, zum Teil unter Verwendung einiger neuer Gesichtspunkte.

Einige Notizen betreffend frühere Untersuchungen über diesen Gegenstand finden sich bereits an anderer Stelle[1—4].

1898[5]) hatte Verf. zum ersten Male die feinere Struktur der Trypanosomen mit Hilfe der von ihm bei den Hämosporidien zur allgemeinen Anwendung gebrachten

---

1) Ziemann, Tse-tse-Krankheit in Togo, Westafrika. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 40.) — 2) Vorläufiger Bericht über das Vorkommen der Tse-tse-Krankheit im Küstengebiet Kameruns. (D. med. Woch. 1903. No. 15.) — 3) Vorläufiger Bericht über das Vorkommen des Texasfiebers der Kinder und weiteres über die Tse-tse-Krankheit und Tiermalaria. (D. med. Woch. 1903. No. 16.) — 4) Zur Bevölkerungs- und Viehfrage in Kamerun. (D. Kolonialbl. 1904. 1. Juli) und Danckelmans Mitteilungen von Forschungsreisenden in deutschen Schutzgebieten. 1904. September.

5) Ziemann, Eine Methode der Doppelfärbung bei Flagellaten, Pilzen, Spirillen und Bakterien, sowie bei einigen Amöben. (Centralbl. f. Bakt. 1898. No. 25.)

sogenannten **Romanowski**schen Färbemethode darzustellen gesucht, insbesondere bei *Trypanosoma rotatorium* das verschiedene färberische Verhalten der Geißelwurzel (Blepharoplast, Centrosoma) und des Kernes, damals noch als Makro- und Mikronucleus aufgefaßt, schon angedeutet.

Zur allgemeinen Orientierung über die Trypanosomenfrage überhaupt verweise ich auch auf die Arbeiten von **Kempner** und **Rabinowitsch**[1], **Salmon** und **Stiles**[2], **Musgrave**[3] und vor allem **Laveran**[4] und **Mesnil**.

Doch sehen wir jetzt ab von den nichtpathogenen Trypanosomen, wie man sie auch bei verschiedenen Fischen und bei Vögeln findet, z. B. in Kamerun zuweilen bei Eisvögeln (*Alcyon*).

Wir teilen die mehr oder weniger pathogenen Trypanosomen im Anschluß an Koch ein in Gruppe A der wohlcharakterisierten Trypanosomen, Gruppe B der voneinander schwieriger, bez. nach Koch überhaupt nicht deutlich zu trennenden Trypanosomen.

Unter A sei erwähnt:

1) *Trypanosoma Theileri.*

2—3mal so groß wie die anderen unter B erwähnten. Bisher in Südafrika, Ostafrika und Togo gefunden.

2) Rattentrypanosoma.

Von den den Rattentrypanosomen nahe verwandten Hamstertrypanosomen können wir hier ebenfalls absehen.

Geheimrat Koch trennt 1 und 2 scharf von den Parasiten unter Gruppe B, da sie in ihren wichtigsten Eigenschaften konstant erscheinen, und zwar hinsichtlich des morphologischen Verhaltens, der Virulenz und ihres Verhaltens zum Wirtstier, indem sich die **Theiler**schen nur auf die Rinder, die Rattentrypanosomen, wie **Koch** durch seine bekannten Versuche erwiesen, nur auf Ratten übertragen lassen. Letzteres konnte auch in Kamerun bestätigt werden. Zur Gruppe B gehören die Trypanosomen, welche bedingen:

1) Die Tse-tse-Krankheit der Haustiere in Afrika. Mäuse, Ratten, Kaninchen sind bei künstlicher Infektion sehr empfänglich. 2) Die Surrakrankheit der Haustiere in Asien, Mauritius, Philippinen und Abessinien, besonders gefährlich Pferden und Kamelen. 3) Mal de caderas, den Pferden in Südamerika gefährlich. 4) Die Dourine in Marocco, Algier, Südfrankreich und Spanien, besonders bei den Pferden vorkommend. 5) Die Trypanosomiasis des Menschen, welche von **Dutton** und **Forde** am Gambia gefunden ist, und deren Infektionskeime eventuell auch als Erreger der Schlafkrankheit dienen können. Die letztere ist bekanntlich nach den schönen Untersuchungen **Castellanis** und **Bruces** ebenfalls als eine Trypanosomiasis zu betrachten.

Es würde ferner dazu eventuell gehören das *Trypanosoma Congolense*[5], welches nach **Broden** sich durch Geißellosigkeit auszeichnen soll. Dasselbe scheint, auf andere

---

[1] **Kempner** und **Rabinowitsch**, Die Trypanosomen in der Menschen- und Tierpathologie, sowie vergleichende Trypanosomenuntersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. 1903. p. 804).

[2] **Salmon** and **Stiles**, Emergency on surra. Washington 1902.

[3] **Musgrave** and **Clegg**, Trypanosoma and Trypanosomiasis. Manila 1903.

[4] **Laveran** et **Mesnil**, Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.

[5] **Broden**, Les infections à Trypanosomes au Congo chez l'homme et les animaux. (Bull. de la société d'études coloniales. 1904. Février.).

Wirtstiere überpflanzt, sich morphologisch leicht zu verändern, indem wieder Geißelbildung auftritt. Die betreffenden Untersuchungen bedürfen noch weiterer Ergänzung und Bestätigung. Sodann wäre eventuell die Infektion durch den unten zu besprechenden, vorläufig von mir *Trypanosoma vivax* genannten Parasiten in Kamerun hier anzuführen.

Ein *Trypanosoma* bei Dromedaren[1]), von Cazalbou gefunden, hat sich mittlerweile schon durch Untersuchungen in Alfort als Surraparasit herausgestellt. Während nun einige Forscher die unter B genannten Parasiten sämtlich, bez. zum Teil als besondere Species auffassen, fassen Koch und Musgrave dieselben als voneinander nicht abgrenzbare Parasiten auf. Dieselben wären nach Koch in den gesamten Haupteigenschaften schwankend, indem sie 1) sich morphologisch nicht abgrenzen lassen, 2) ihre Virulenz eine in weitem Grade schwankende sei und 3) sie nicht auf einen bestimmten Wirt angewiesen seien.

In der Tat sind im gefärbten Präparat die genannten Parasiten, wie schon Kempner und Rabinowitsch dargetan, nicht oder nicht mit Sicherheit zu unterscheiden. Wir werden indes sehen, daß bei häufiger vergleichender Untersuchung im lebenden Präparat sich weitere biologische Unterschiede erkennbar machen, jedenfalls bei *Trypanosoma vivax* gegenüber den Tse-tse- oder Naganaparasiten. Man kann nicht ausschließlich oder fast ausschließlich das gefärbte Präparat zum Maßstabe der Beurteilung machen. Wir haben außerdem bei den Trypanosomen mit einer mehr oder weniger angedeuteten Differenzierung in indifferente, männliche und weibliche Trypanosomen zu rechnen, was morphologische Differenzen innerhalb einer Trypanosomenspecies rechtfertigen würde. Cfr. meine Befunde beim Tse-tse-Parasiten weiter unten. Geheimrat Koch zieht aus seinen Forschungen den Schluß, daß die Trypanosomen von Gruppe B erst eine kurze Zeit in ihren Wirten lebten und daher sich noch nicht zu festen Arten entwickelt hätten. Auch die Trypanosomen der Menschen, bez. die Erreger der Schlafkrankheit ließen sich von denjenigen der Tse-tse und Surra nicht unterscheiden, weder morphologisch noch bezüglich ihrer pathogenen Eigenschaft gegenüber den Haus- und Versuchstieren. Auch in Bezug auf die allgemeinen Krankheitssymptome verhielte sich die menschliche Trypanosomenkrankheit ebenso wie die bei Tieren beobachtete, wegen der relativ langen, unbemerkt bleibenden Latenzperiode der Infektion, des unregelmäßigen Fiebers, der Anämie, Abmagerung, Oedeme, Schwellung der Lymphdrüsen und der Milz.

Wir können bekanntlich auch bei der Malaria beobachten, daß sowohl der wohlcharakterisierte und artverschiedene Tertian, wie der Quartan, wie auch der halbmondbildende Parasit eine Reihe pathologischer Veränderungen schafft, wie Anämie, Melanämie etc., die allen Malariainfektionen gemeinsam sind.

Geheimrat Koch macht ferner gegen Laveran und Mesnil, welche sich darauf berufen, Tiere, welche gegen Tse-tse immunisiert wurden, nachträglich mit Surra infiziert zu haben, Bedenken geltend und erkennt ihre Versuche als nicht beweiskräftig an. Die Versuche seien an Ziegen angestellt, welche für beide Krankheiten fast unempfänglich und deswegen für Infizierung mit Surra und Tse-tse ungeeignet seien. Auch Musgrave läßt Ziegen und Schafe relativ immun sein gegen Surra („apparently not susceptible to natural infection“). Das Experiment hätte dann auch einen Verlauf gehabt, wie er nicht anders zu erwarten gewesen wäre. Die mit Surra infizierten Tiere wären nicht krank geworden und wäre nur durch den Tierversuch festgestellt, daß sie einige spärliche Trypanosomen hatten. Es sei ferner nicht ermittelt, ob diese Trypanosomen von der Vor- oder Nachimpfung herrührten, was geschehen hätte müssen, da auch immunisierte Tiere noch lange Zeit Trypanosomen in ihrem Blute haben können. Es wird an Laveran und Mesnil sein, auf diese Einwürfe zu antworten.

Ich möchte hier nur kurz bemerken, daß bei meinen Untersuchungen in Kamerun sich die Schafe und Ziegen, wie wir sehen werden, als durchaus nicht unempfänglich gegen die Trypanosomeninfektion verhielten, sondern in einem erheblichen Prozentsatze sich spontan infiziert zeigten, und

---

[1]) Vallée et Panisset, Sur les rapports du Surra et de la Mbori. (Extrait des comptes rendus des Académie des sciences. 1904. séance du 21. Nov.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

auch durchaus nicht selten starben an spontaner Infektion.

Zur Illustrierung der Unbeständigkeit, insbesondere der Virulenz, der Parasiten von Gruppe B führt Herr Geheimrat Koch folgenden Versuch an: Ein schwerkranker Hengst, stammend aus Togo in Westafrika, zeigte Trypanosomen, welche auf Pferde, Esel, Hunde, Ratten und Mäuse überimpft, diese Tiere tse-tsekrank machten und in kurzer Zeit eingehen ließen. Die Trypanosomen im Blute dieses Hengstes hätten also eine sehr hohe Virulenz besessen. Das zweite Pferd, eine Togostute, ließ nicht das geringste Zeichen von Tse-tse-Krankheit erkennen. Erst nach Ueberimpfung von 20 ccm Blut in die Bauchhöhle von jungen Hunden wurden Trypanosomen nachgewiesen. Während nun die mit dem Hengstblut geimpften Hunde immer in kurzer Zeit eine schwere Tse-tse-Krankheit bekamen, waren die von der Stute geimpften nur leicht krank geworden, ja geimpfte Pferde, Ratten und Mäuse wurden ebenfalls nur leicht oder gar nicht krank. Schließlich erlag die Stute einer künstlichen Infektion mit dem Hengstblute in kurzer Zeit. Wir hätten also in derselben Gegend, nebeneinander vorkommend, hochvirulente und fast avirulente Trypanosomen. Der avirulente Stamm der Togostute hätte durch Verimpfung auf Pferde und dann fortlaufend auf Hunde eine erhebliche Zunahme erhalten. Andererseits wäre ihm in Dar-es-Salam die Herabsetzung der Virulenz durch Passagen von Trypanosomen, welche für Rinder sehr virulent waren, durch Ratten und dann durch Hunde gelungen. Durch alle diese Versuche sei die Unbeständigkeit der Virulenz der Tse-tse-Parasiten bewiesen. Bei der Malaria hätte man ähnliche Zustände der Verwirrung durch Aufstellen zu vieler Parasitengruppen erlebt. Meines Wissens haben aber von namhaften Malariaforschern, die nicht an die Einheit sämtlicher Malariaparasiten glaubten, nur Mannaberg und einige Italiener wie Grassi und Feletti etc. früher drei Species der Malariaparasiten angenommen. Die verschiedenen Malariaparasiten werden außerdem von Moskitos, und zwar sämtlich nur von der einen Gattung Anopheles, in der die geschlechtliche Entwickelung vor sich geht, übertragen, während die von Koch als gewisse Einheit aufgefaßten Trypanosomen des Typus B von stechenden Insekten verschiedener Gattung übertragen werden können. Die Möglichkeit aber, daß auch die Trypanosomen in den stechenden Insekten eine weitere Entwickelung durchmachen, ist nicht von der Hand zu weisen. Wir werden diese Annahme weiter unten durch Beobachtungen zu stützen suchen. Dann aber wäre es nicht gezwungen, anzunehmen, daß in diesen ganz verschiedenen Gattungen von stechenden Insekten sich auch die Entwickelung der einzelnen Trypanosomen verschieden abspielt. Mit anderen Worten, die Trypanosomen des Typus B könnten trotz der vielen Aehnlichkeiten, die sie miteinander während der Entwickelung im Blute der infizierten Säugetiere haben, doch artverschieden sein. Bekanntlich zeigen die artverschiedenen Tertian- Quartan- und halbmondbildenden Parasiten umgekehrt während ihrer geschlechtlichen Entwickelung im Anopheles kaum oder wenig Differenzen.

Ich würde jede Diskussion, ob einzelne oder alle Trypanosomen des Typus B verschiedene Species darstellen, für unwichtig halten, wenn die Uebertragung der Trypanosomen durch die stechenden Insekten von einem Tier auf das andere ausschließlich direkt und rein mechanisch mit dem Stechrüssel ohne Vermehrung im Fliegenkörper erfolgte. Dem scheinen aber meine epidemiologischen Erfahrungen in Suellaba (cfr. unten) zu widersprechen. Würde die Uebertragung rein mechanisch erfolgen, wäre es gleichgültig, ob die Trypanosomen durch Glossinen oder Tabaniden übertragen werden. Dieselben Trypanosomen könnten dann bald durch den Stich der infizierten *Glossina morsitans* die Tse-tse-Krankheit, bald durch den der infizierten Tabanide etc. die Surra bedingen.

Wir werden ferner bei Besprechung des Immunisierungsprinzipes sehen, daß die eventuelle Trennung einzelner oder aller Trypanosomen des Typus B in verschiedene Species eventuell auch praktische Vorteile bieten könnte. Doch kehren wir zu Kochs Versuch zurück.

Schilling hat in Togo, also der Kolonie, wo Kochs 2 Versuchspferde mit den so verschieden virulenten Trypanosomen herstammten, neben dem gewöhnlichen Tse-tse-Parasiten auch den Parasiten wiedergefunden, den ich bereits früher in Kamerun Anfang des Jahres 1903, gefunden, und bereits als *Tr. vivax* vom Tse-tse-Parasiten getrennt hatte. Derselbe ist, wie wir sehen werden, oft außerordentlich virulent. Die, wenn auch entfernte Möglichkeit, daß es sich bei dem Togohengst und der Togostute Kochs von vornherein um zwei, wohl äußerst nahe verwandte aber doch verschiedene, im gefärbten Präparat nicht oder kaum unterscheidbare Parasiten gehandelt hat, ist also nicht gänzlich abzuweisen. (Indes sei immerhin erwähnt, daß ich bisher diesen Parasiten in Kamerun noch nicht bei spontan infizierten Pferden gefunden habe.)

Ich möchte in diesem Zusammenhange noch betonen, daß in Kamerun selbst die Rattentrypanosomen etwas verschiedene Virulenz zu zeigen schienen, indem infizierte, augenscheinlich kranke Tiere gefangen wurden, während andere Ratten mit geradezu ungeheueren Mengen Tr. sich scheinbar völlig wohl fühlten. Wohlverstanden waren Verletzungen infolge des Fanges oder sonstige krankheitserregende Ursachen, soweit ich erkennen konnte, bei den scheinbar kranken Tieren ausgeschlossen. Ein Schwanken in der Virulenz findet man auch bei anderen Parasiten, die einer ganz bestimmten Species angehören. Ich erinnere nur an die kolossale Differenz in der Virulenz der einzelnen Malariaparasiten, je nach Ort und Zeit des Auftretens. Die Malaria, bedingt durch den halbmondbildenden Malariaparasiten, den ich zum ersten Mal in der lombardischen Ebene 1897 festgestellt[1]), ist himmelweit verschieden in ihrer Wirkung von der unseres Kameruner Parasiten.

Die bisher bekannt gewordenen Beobachtungen lassen jedenfalls schließen, 1) daß die Trypanosomen der Gruppe B schon primär eine verschiedene Virulenz zeigen können, was sie mit anderen Parasiten gemeinschaftlich haben, 2) daß ihre Virulenz bei artifiziellen Passagen durch andere Tiere je nach Wahl der letzteren gesteigert oder geschwächt werden kann.

Schwerer wiegt der Einwurf, daß die Parasiten der Gruppe B, überimpft auf andere Tiere, morphologisch sich ändern können, wodurch ihre Mutabilität sich erweist.

So wird z. B. von den Tse-tse-Parasiten berichtet, daß sie verhältnismäßig klein sind und ein stumpfes hinteres Ende im Blute der Ratten, Rinder und Hunde haben, dagegen groß sind mit spitzem lang ausgezogenem Ende im Blute der Pferde, im Kaninchen- und Hundeblute auffallend lange, im Schweineblut auffallend kurze Geißeln haben. Ich habe beiläufig bei *Trypanosoma vivax* diese morphologische Mutabilität bei Ueberimpfungen bis jetzt nicht gefunden, wohl aber Mutabilität in der Beweglichkeit bei Eintritt des Immunisierungsprozesses. Der oben gemachte Einwurf würde meines Erachtens noch an Kraft gewinnen, wenn dieselbe starke Mutabilität im morphologischen Verhalten, z. B. der Geißellänge, Körperlänge etc. nicht bloß bei den artverschiedenen Tieren sich fände, sondern in den primär, d. h. natürlich infizierten Tieren; wenn also z. B. die männlichen erwachsenen Tse-tse-Parasiten eines Rindes bald mehr plump mit stumpfem Ende, bald mehr schlank und spitz ausgezogen wie Rattentrypanosomen erschienen. Das aber scheint nicht der Fall zu sein. Man könnte einwerfen, daß die betreffenden Trypanosomen durch Anpassung an den betreffenden Wirt gerade in diesem sich zur konstanten Form in morphologischer Beziehung herangezüchtet hätten.

Es würde aber ferner die Wahrscheinlichkeit, daß die Parasiten der Gruppe B eine Einheit darstellen, verstärken helfen, wenn die Parasiten, z. B. der Tse-tse-Krankheit, wenigstens bei dem primär und spontan erkrankten Wirtstier, sagen wir einem Rinde, sich morphologisch und biologisch genau so verhielten, wie die Surraparasiten bei einem ebenfalls primär und spontan erkrankten Rinde derselben Rasse, welches unter denselben äußeren Bedingungen sich befindet. Ich werde aber zu zeigen versuchen, daß wenigstens *Trypanosoma vivax* gegenüber dem Tse-tse- oder Naganaparasiten in demselben primär und spontan erkrankten Wirtstier trotz Gleichheit sämtlicher äußeren Lebensbedingungen etwas verschieden sich zu verhalten scheint, in Beweglichkeit, Gestalt, Virulenz, pathologisch-anatomischer Wirkung, und von diesen weniger schwer wiegenden Momenten abgesehen, vor allem, weil Ueberstehen der Tse-tse-Krankheit keinen Schutz gegen *Trypanosoma vivax* gewährt, und im Gegensatz zum Tse-tse- oder Nagana-Parasiten das *Trypanosoma vivax* wenig oder kaum sexuale Differenzen aufweist.

Die Ergebnisse, gewonnen durch künstliche Ueberimpfung auf Versuchstiere, die der betreffenden natürlichen Infektion sonst nicht unterliegen, müssen bei Erörterung und Verfolgen prinzipieller morphologischer und biologischer Fragen etwas mit Reserve betrachtet werden. Diese Tiere stellen c. granosalis eben keinen ganz natürlichen Nährboden dar, und ist eventuell dieses Moment zur Erklärung mit heranzuziehen, wenn in morphologischer und biologischer Beziehung bei den geimpften Versuchstieren Veränderungen der Trypanosomen auftreten. Uebrigens soll ja durchaus nicht geleugnet werden, daß die Trypanosomen auch bei natürlicher In-

---

[1]) Ziemann, Neue Untersuchungen über die Malaria und den Malariaerregern nahestehende Blutparasiten. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 8.)

fektion je nach den verschiedenen warmblütigen Wirten ein verschiedenes morphologisches Verhalten zeigen. Das hat schon Bruce in seinen klassischen Untersuchungen betont.

Diese Mutabilität der Trypanosomen ist durch Kochs geistvolle Ausführung aufs neue demonstriert. Ich möchte aber empfehlen, bei Vergleich der Tse-tse-, Surra-, Mal de Caderas-, Dourine-Krankheit etc. nur die primär und spontan infizierten Wirtstiere je derselben Rasse hinsichtlich der Infektion und der infizierenden Trypanosomen miteinander in Beziehung zu bringen, bezw. mit dem Blute jener geimpfte Tiere derselben Rasse und jedes Moment, das modifizierend wirken könnte, wie eventuell verschiedenes Klima, Nahrung, verschiedene Rasse, Immunisierung, auszuschalten.

Nur wenige Untersucher dürften die primären und spontanen Infektionen durch Trypanosomen des Typus B in verschiedenen Ländern bei denselben Tierrassen unter denselben äußeren Bedingungen verfolgt haben.

Mit unseren letzten Ausführungen berühren wir bereits den dritten Einwurf, daß die Parasiten des Typus B nicht auf einen bestimmten Wirt angewiesen seien. Wir müssen unterscheiden zwischen natürlicher und künstlicher Infektion; nur die erstere kommt für uns in epidemiologischer und praktischer Beziehung zunächst in Frage.

Wir wissen, daß die Trypanosomen des Typus B sich auf Versuchstiere übertragen lassen, wir wissen aber auch, daß z. B. der Mensch, der der natürlichen Infektion durch die Trypanosomen der menschlichen Trypanosomiasis unterworfen ist, der natürlichen Infektion durch den Tse-tse-Parasiten nicht ausgesetzt ist. Mit anderen Worten, die Krankheitserreger, d. h. die betreffenden Trypanosomen des Typus B sind während ihrer Entwickelung im Blute der Warmblüter sicherlich wenigstens sehr ähnlich, die Krankheiten selbst aber sind verschieden.

Bleiben wir bei dem wichtigen, oben schon erwähnten Faktum stehen, daß die zweiten Wirte der Trypanosomen des Typus B, die verschiedenen stechenden Insekten, durchaus verschieden sind. Der Tse-tse-Parasit z. B. wird durch *Glossina morsitans* oder *longipalpis* Wied. übertragen, der Surraparasit voraussichtlich durch *Stomoxys* oder Tabaniden, der Parasit der Schlafkrankheit durch *Glossina palpalis* Rob.-Desv. Die Rolle der Culiciden bei Uebertragung der Trypanosomen ist noch nicht genügend geklärt.

Ich will hier von Dourine, Mal de Caderas und den von Broden beschriebenen Infektionen absehen, und wollen wir bei Besprechung der Kameruner Befunde zu vergleichenden Zwecken nur folgende Parasiten des Typus B berücksichtigen.

1) Die Parasiten der menschlichen Trypanosomenkrankheit sind auch bereits aus dem Hinterlande Kameruns festgestellt[1]), nachdem ich bereits früher das Vorkommen der Schlafkrankheit daselbst erwiesen.

Im Küstengebiet habe ich trotz sehr vieler Untersuchungen Trypanosomen bei dortigen Eingeborenen noch nicht gefunden. Auch neuere Untersuchungen bei anthropoiden Affen, d. h. bei 2 Schimpansen und 1 kleinen Gorilla, waren negativ.

---

1) Günther u. Weber, Ein Fall von Trypanosomenkrankheit beim Menschen. (Münch. med. Woch. 1904. No. 24.)

Indessen gelang es mir auf der Heimreise 1900 bei 1 Schimpansen[1]) aus dem Kongogebiet an Bord des Dampfers Trypanosomen zu finden, welche ich damals in ihrem morphologischen Verhalten im ungefärbten Präparat mit dem Rattentrypanosoma (*Trypanosoma Lewisi*) verglich, nur daß die Geißel beträchtlich kürzer war. Als Rattentrypanosomen konnten sie schon deswegen nicht aufgefaßt werden, da ja diese, wie schon längst bekannt, nur in Rattenblut sich finden.

Der Affe zeigte ein etwas teilnahmloses Verhalten. Leider wurden von dem Besitzer weitere Untersuchungen nicht gestattet. Es ist mit Sicherheit anzunehmen, daß der betreffende Parasit zur Gruppe der Trypanosomen gehörte, welche die Trypanosomenkrankheit des Menschen, die Tse-tse und Surra etc. bedingen.

Man weiß, daß die Trypanosomen des Menschen, auf Affen künstlich überimpft, bei den Tieren ebenfalls schwere Schädigungen verursachen können. Da nun nach meinen Erhebungen auch *Filaria*-Embryonen, welche sich morphologisch in nichts von denen der *Filaria perstans* des Menschen unterschieden, von mir schon zweimal bei natürlich infizierten Schimpansen gefunden wurden (von **Manson** bestätigt), dürfte diesem Trypanosomenbefunde von 1900 bei natürlich infizierten Affen eine gewisse praktische Bedeutung innewohnen, nach dem später auch beim Menschen pathogene Trypanosomen gefunden wurden. Der einzige, der noch vor meinem Befunde bei Schimpansen, bei Menschen Trypanosomen gesehen hat, scheint **Nepveu** gewesen zu sein (1898)[2]).

Es ist dieser Fall von Infektion bei einem anthropoiden Affen aus dem Kongostaat auch schon deswegen interessant, weil gerade vom Kongo eine äußerst häufige Infektion des Menschen durch den Erreger der Schlafkrankheit gemeldet ist.

An der Küste Kameruns sind von mir im ganzen bisher nur 2 sporadische, eingeschleppte Fälle beobachtet[3])[4]).

Glossina palpalis findet sich an verschiedenen Stellen, auch im Küstengebiet, z. B. in Victoria, Buea, Barombi etc. Die Bedingungen zu einer weiteren Verbreitung der Schlafkrankheit würden also immerhin gegeben sein.

Betrachten wir 2) die Tse-tse-Krankheit in Kamerun. Historisch sei hierzu folgendes erwähnt:

Im Jahre 1900 gelang es, an der westafrikanischen Küste, und zwar in Togo, die Tse-tse-Krankheit festzustellen, was durch **Schilling** später bestätigt wurde. Schon damals machte ich auf das färberisch differente Verhalten der Tse-tse-Parasiten aufmerksam, indem ich unter den betreffenden Trypanosomen männliche und weibliche Formen absonderte (l. c.). Auch eine Konjugation der Parasiten wurde behauptet. Die weiblichen Formen unterscheiden sich durch ihr tiefer blau gefärbtes Protoplasma, und, wie ich hinzufügen möchte, durch die größere Anhäufung von Reservestoffen, von den männlichen, die ein mehr homogenes zartes, mehr lichtblau gefärbtes Protoplasma aufweisen. Die weiblichen Formen unterscheiden sich ferner durch ihre etwas plumpere Form und schwächere Geißel von den gewöhnlichen Parasiten, auch durch geringere Beweglichkeit, während die männlichen, blaß gefärbten Formen eine längere Geißel zeigten. Auch wurde bei den Togopräparaten bereits eine stärkere Verteilung des Chromatins in dem Plasma der männlichen Parasiten erwähnt (l. c.). Es scheint die damalige Deutung von sexuellen Formen, welche zweifellos gewisse Analogien mit den Malariaparasiten schafft, und von prinzipieller Bedeutung ist, wenig Beachtung gefunden zu haben.

v. Prowazek bestätigt im Prinzip meine Befunde in bezug auf *Tryp. Brucei* oder Tse-tse-Parasiten in seiner Publikation über *Herpetomonas*[5]). Die Togo-Tse-tse-Parasiten

---

1) **Ziemann**, Ueber das Vorkommen von Filaria perstans und von Trypanosomen beim Schimpansen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VI. 1902.)

2) **Nepveu**, Sur un trypanosome dans le sang de l'homme. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1898. p. 1172.)

3) **Ziemann**, Ist die Schlafkrankheit der Neger eine Intoxikations- oder Infektionskrankheit? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 6.)

4) **Ziemann**, Ueber das Vorkommen der Lepra, der Schlafkrankheit, Beri-beri in Kamerun. (Deutsche med. Woch. 1903. No. 11.)

5) **v. Prowazek**, Die Entwickelung von Herpetomonas. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XX. 1904. Heft 3.)

entsprachen ganz der von Bruce gegebenen Beschreibung. Ich kannte also die lebenden Tse-tse-Parasiten bereits gut genug, um nunmehr Vergleiche anstellen zu können mit anderen Trypanosomen.

November 1902 wurde nach meiner Ankunft in Kamerun die Untersuchung wieder aufgenommen, und zeigten sich dort bei zahlreichen Untersuchungen der Haustiere zwei scheinbar verschiedene Trypanosomeninfektionen: 1) Die Tse-tse-Krankheit, wie wir sie aus Südafrika, Ostafrika und Togo bereits kannten; 2) eine davon scheinbar verschiedene Infektion, bedingt durch einen Parasiten, welcher speziell im lebenden Präparat sich deutlich von dem Tse-tse-Parasiten unterscheiden ließ. Dieser Parasit, der morphologisch den Beschreibungen nach, an den sog. Surraparsiten erinnern konnte, erhielt von mir provisorisch den Namen *Trypanosoma vivax*. Von einem eventuellen Vorkommen des Surraparasiten in Westafrika war damals jedenfalls noch nichts bekannt. Es stellte sich nun das interessante Faktum heraus:

a) Daß der sog. Tse-tse-Parasit bis jetzt von mir mit Sicherheit nur bei 2 Pferden, (1 aus Jaunde, 1 aus Tinto), 1 Maultier und 2 Buckelrindern gefunden wurde, welche aus dem Innern stammten, und sofort nach Ankunft an der Küste untersucht wurden, ferner bei 1 Esel. Dessen Tse-tse-Infektion wurde aber erst einige Wochen nach Ankunft an der Küste festgestellt. Die Möglichkeit, daß sie eventuell auch im Küstengebiet vorkommt, will ich nicht im geringsten bestreiten. Wurden doch einige Male Schafe bezw. Ziegen beobachtet, deren Herkunft, ob aus dem Inneren stammend, mindestens zweifelhaft war, und welche möglicherweise eine Mischinfektion von Tse-tse-Parasiten und von *Trypanosoma vivax* aufwiesen (bez. Uebergangsformen zwischen diesen Parasiten?). Der Tse-tse-Parasit dürfte aber sicher im allgemeinen im Küstengebiet viel seltener sein, als *Trypanosoma vivax*.

b) Daß die *Glossina morsitans* bezw. *longipalpis* im Küstengebiet fehlte, während im Hinterlande nach den freundlichst mir gemachten mündlichen Angaben des Zoologen Dr. Grünberg in Berlin die der *Glossina longipalpis* nahestehende, aber kleinere Species *Glossina tachinoides* Westw. sich findet, welche also im Hinterlande möglicherweise die Tse-tse-Krankheit überträgt.

Von sonstigen Glossinen ist nach Dr. Grünberg bis jetzt nur noch *Glossina fusca* Walk. vereinzelt, bei Joh. Albrechts-Höhe, festgestellt.

c) Daß die Tse-tse-Infektion der genannten Tiere, die mit anderen Tieren zusammenstanden und zusammen weideten, nicht auf diese letzteren, wenigstens nicht in dem Hauptorte Kameruns in Duala, überging, dies zu einer Zeit, als frische Infektionen durch *Trypanosoma vivax* daselbst bei dort geborenen Schafen beobachtet wurden. Der entsprechende Ueberträger schien also zu fehlen.

d) Daß von Haustieren die Pferde und Maultiere, welche in der Küstengegend geboren waren, bis jetzt sich noch nicht infiziert zeigten. Allerdings war die Zahl dieser an der Küste zur Blutuntersuchung gelangten Pferde nicht groß (18 im ganzen). Herr Gouverneur v. Puttkamer, dem ich meine ersten Befunde mitteilte, daß wir eine Art äußerst verbreiteter Tse-tse-Krankheit in der Kolonie hätten, schüttelte anfangs sogar ungläubig den Kopf, „ja, aber unsere Pferde gedeihen doch hier ausgezeichnet und erkranken nicht wie in Togo und Lagos“.

Uebertragungen von größeren Mengen Blutes dieser Tiere auf Versuchstiere, um latente Infektionen auszuschließen, sind allerdings noch nicht vorgenommen infolge bereits erwähnter Gründe, auch vor allem aus Mangel an disponiblen Fonds.

Wenn man aber bedenkt, daß in der nahen englischen Kolonie Lagos, in der ich 1903 ebenfalls die Trypanosomenkrankheit (Tse-tse) der Haustiere als erster feststellte (l. c.), die Pferde oft an Tse-tse erkranken und sterben, in der Küstengegend Kameruns aber sich die Pferde scheinbar gut halten, während Rinder, Schafe und Ziegen oft erkranken, wird man ziemlich sicher auf Abwesenheit der natürlichen Trypanosomenkrankheit bei den Pferden des Küstenstrichs von Kamerun rechnen können.

Die Befunde an *Trypanosoma Brucei* können hier übergangen werden, da sie sonst nichts Neues boten. Da *Glossina morsitans* nicht zu erhalten war, auch nicht genügend andere Glossinen, konnten auch Infektionsversuche mit ihnen nicht stattfinden.

Es gelang leicht, eine Katze mit *Trypanosoma Brucei* von einem chronisch tse-tse-kranken Pferde am 24. Nov. 1902 tödlich zu infizieren. Die Krankheitsdauer betrug 30 Tage, das Inkubationsstadium bis zum ersten, mikroskopisch festgestellten Auftreten des *Trypanosoma Brucei* 5 Tage. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

On the occurrence of a large sized parasite of the Karyolysus order, in the blood of Rana clamata.

By Dr. **James Stebbins jr.**, New York.

With 2 plates.

In a previous paper entitled „upon the occurrence of Haemosporidia in the blood of *Rana catesbiana*, with an account of their probable life history" (Transactions American Microscopical Soc. Vol. XXV. 1904. p. 55). I hinted at the presence of certain large, and peculiar parasites which differed so radically from those then under observation, that I was led to infer that they represented a new species, distinct from *Haemogregarina catesbianae*. Further investigation has fully confirmed this surmise, and it was therefore thought that a more detailed description of the peculiarities and morphology of this interesting parasite, would not be out of place.

This parasite which for want of a better name, I have called *Karyolysus clamatae*, was originally observed in thee blood of *Rana catesbiana*, but, since then I have found it in large numbers in the blood of *Rana clamata*, both in the extra-corpuscular, intra-corpuscular, and encysted states.

Extra-corpuscular parasite.

Karyolysus clamatae in the free state, somewhat resembles *Haemogregarina catesbianae*, but, is considerably longer, and broader, and has a much blunter head.

When fully extended, this parasite has a length of 22,8 microns, with extremes of 16,66, to 23,8 microns. The diameter of its head is on an average 4,23, while that of the body at its widest part is 2,38, to 3,72 microns.

It will thus be seen that we here have a vermicular or worm-shaped parasite with a large round anterior end, or head, which gradually tapers from there to a sharply pointed posterior end, or tail.

It swims with its large rounded end, head-first.

It is provided with a large nucleus centrally located. The Latter may be either round, or elongate, and stains of a purplish, to carmine color with the Goldhorn, or methylene-azur, and eosin stains.

The body cytoplasm stains light bluish; contains numerous fine granulations, and may, or may not be provided with one, or more vacuoles.

It is able to enter and leave the blood corpuscles with the greatest ease, and rapidity, and always, mutilates the corpuscles badly in so doing. It seems to attack both the leucocytes, and erythrocytes, but shows a marked preference for the red cells.

Wat I have said in my previous paper (loc. cit.) concerning the ease with which the microgametocyte of *Haemogregarina catesbianae* is able to enter and leave the blood corpuscles, applies equally as well to this organism.

When about to penetrate an erythrocyte, this parasite will glide up to the same with its blunt rounded end, first, and when in contact with the corpuscle, a marked change in the anterior portion of the bod will be seen to take place. This change consists in the formation of an annular swelling, or bulging out of the anterior portion of the body, extending from the nucleus close up to the head of the organism. This annular swelling of the body is caused by a hyaline, protoplasm-like substance, clearly defined against the dark background of the main portion of the body (Pl. I, fig. 1). While in this condition the parasite easily penetrates the corpuscle which it attacks. In so doing all that can be observed is a slight indentation of the cell protoplasm at the point of contact (Pl. I, fig. 2), when the latter will be seen to yield to the pressure exerted from without by the organism, and before one can realize it, the vermicule has completely burried itself within the corpuscle (Pl. I, fig. 3), and leaving as a rule no other evidence of its presence within than a slight distortion and wrinkling of the cell protoplasm. At other times however its movements may be easily followed as it explores all parts of the corpuscle, not even respecting the nucleus which it frequently pierces, and mutilates.

In a short while the organism will leave the corpuscle which it has invaded, and usually when this is about to occur, a protuberance will be formed upon the side of the corpuscle from which the parasite is about to emerge. The bulging out of the cell protoplasm gradually increases in unison with the progress of the vermicule, until just before it leaves the corpuscle, the latter is drawn out pear-shaped (Pl. I, fig. 4). By this time the parasite has practically emerged from the cell, but is still connected with the latter by a very fine hyaline gelatinous thread, nealy invisible in the unstained condition, and with which it tows the vacated corpuscle around for some distance before the thread is eventually ruptured.

It frequently happens that the parasite when leaving a corpuscle may tear away a portion of the cell protoplasm, which it will carry around for some time attached to the before-mentioned gelatinous thread.

As already stated, *Karyolysus clamatae* has the property of greatly mutilating the erythrocytes which it has invaded. This state of affairs is particularly well shown up in the stained specimens. In these the position of the parasite may be easily demonstrated by the presence of furrows, single in some corpuscles, and in others so numerous as to completely honeycomb the cell protoplasm, and nuclei (Pl. I, fig. 5).

An other common occurrence is to see a parasite emerge from a mutilated erythrocyte towing the cell nucleus after it, attached to the same by the before-mentioned fine gelatinous thread, which after a while is ruptured, thus leaving the nucleus in a free state in the blood plasma, and if a sample of this blood is examined under the microscope, large numbers of free cell nuclei will be found.

It has been stated elsewhere in this paper that an annular swelling is formed at the anterior end of the body, when a parasite is about to enter a blood corpuscle! I have however since discovered that such annular swellings are to be found at times in almost anypart of the body, thus giving the latter a beaded appearance.

Intra-corpuscular parasite.

The extra-corpuscular parasite, after a life in the free state of unknown duration, finally enters a red blood corpuscle and becomes so to say dormant, or encysted without however surrounding itsself with

Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. Plate I. ***Stebbins,*** *Extra-corpuscular form of Karyolysus clamatae.* **x** 1000.

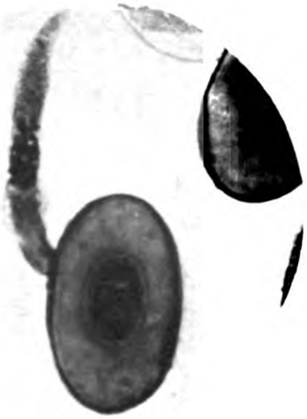


Fig. 1.

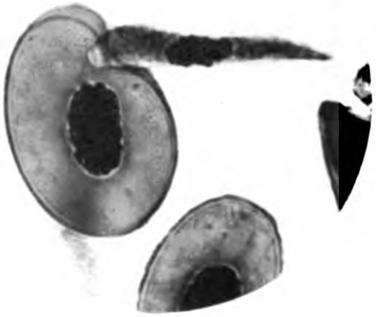


Fig. 2.

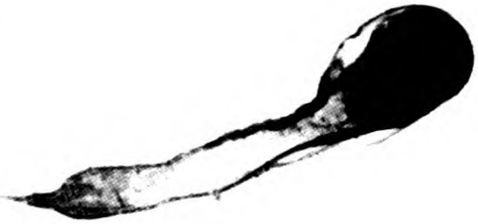


Fig. 5.

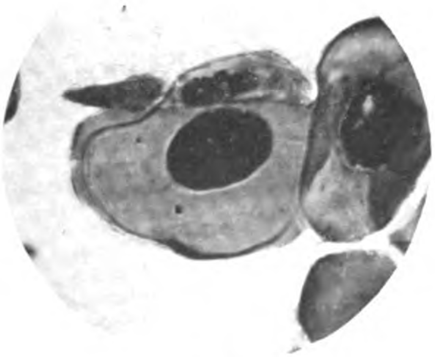


Fig. 3.

Fig. 4.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. Plate II. **Stebbins,** *Intra-corpuscular form of Karyolysus clamatae.* x 1000.

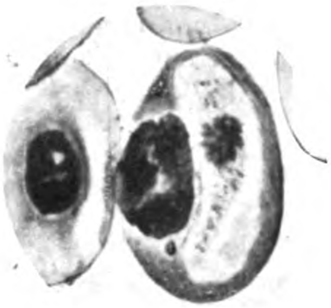


Fig. 1.

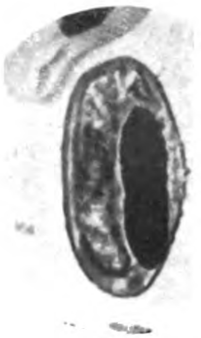


Fig. 2.

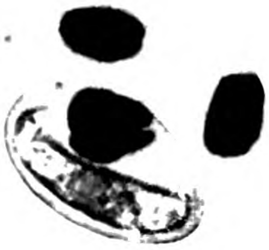


Fig. 3.

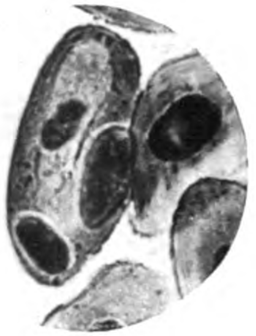


Fig. 4.

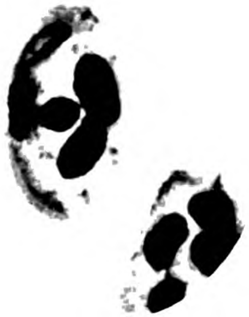


Fig. 5.

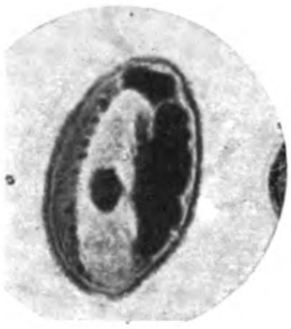


Fig. 6.

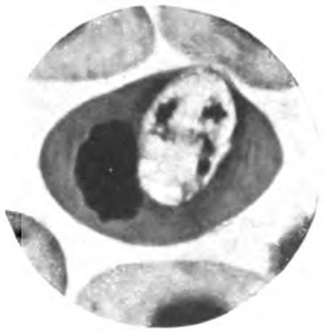


Fig. 7.

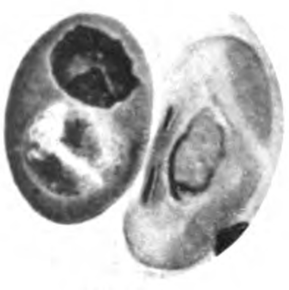


Fig. 8.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

a membrane, or capsule. As some of the parasites are considerably longer than the blood corpuscles, they are obliged in order to acommodate themselves to the dimensions of their habitat, to sometimes curl up, and fold over on themselves U-fashion (Pl. II, fig. 1).

No sooner has a red blood corpuscle become invaded by a so to say resting parasite, than its nucleus becomes greatly enlarged (Pl. II, fig. 2), and a the same time the cell cytoplasm begins to show signs of granular degeneration.

Occasionally too the corpuscles become hypertrophied, but, this is not the rule. After a while the cell nuclei which at first were simply en larged, now begin to show signs of division (Pl. II, fig. 3), first splitting up into two (Pl. II, fig. 4), then into four (Pl. II, fig. 5), and finally into numerous parts (Pl. II, fig. 6).

An other peculiarity of the red corpuscles in this stage of the parasite's life history, is the peculiar manner in which they stain.

The uninfected erythrocytes, and even those which have been mutilated by the extra-corpuscular parasite, assume as a rule a light blue to purplish cytoplasm stain, while their nuclei stain purplish, or fiery-red with the Goldhorn polychrom methylene blue, and eosin, or methylenazur, and eosin stains, while on the other hand both the cytoplasm, and nuclei of the erythrocytes infected with the resting or encysted parasite, stain of a peculiar, and characteristic purplish-red, almost carmine shade.

In its peculiar behavior towards the red corpuscles, this organism therefore differs from any with which I am acquainted.

Langmann[1]), it is true refers to an organism which has some analogy to the one above described, but, he states „the body of the large intra-cellar organism, sometimes, but seldom, shows a nucleus", whereas the intra-cellar form of *Karyolysus clamatae* on the contrary, is characterised by a pronounced nucleus. Therefore the only points in common between the two organisms, are their large size, and their karyolytic action upon the nuclei of the red blood corpuscles.

The next stage in the parasite's life history is the formation of cysts. The exact manner in which these cysts are formed, I am at present unable to state. At all events the organism gradually becomes more ovoid in shape (Pl. II, fig. 7), possibly due to an over-folding, and coalescing of the two U-shaped loops of the same, in some such manner as was shown to occur in the asexual cycle of *Haemogregarina catesbianae.* At the same time the nucleus splits up into several fair sized chromatin particles, which become scattered over the body of the parasite, and whose cytoplasm at the same time assumes a more granular appearance.

The ovoid shape finally goes over into a spherical shape, or true cyst without apparently being surrounded by a capsule (Pl. II, fig. 8), and having all the appearances of being a cytocyst. By carefully examining the figures, it will be noticed that this cyst contains a number of small ovoid bodies containing nuclei, which in turn surround two masses of residual protoplasm. These small bodies have the appearance of being schizonts or merozoites, but, of this I at present have no definite proof.

---

[1]) Studies from the Department of Pathology of the College of Phys. and Surg. Columbia University. Vol. VI. 1898—1899. p. 12.

In this absence of capsule, the above described cysts differ very markedly from the cyto- and sporocysts of *Haemogregarina catesbianae*, which on the contrary have well-defined capsules.

I am still in the dark as to the life history of this interesting parasite, but, am gradually gathering more data together relating to the same, and hope to be able at some future time to throw more light upon the subject.

Nachdruck verboten.

Eine zweite Rattenlaus aus Abessinien.

Von Dr. med. **P. Speiser,** Bischofsburg (Ostpreußen).

Mit 1 Figur.

G. Neumann hat vor 2 Jahren[1]) eine Laus beschrieben, die von den Reisenden Frhr. v. Erlanger und Hilpert auf Ratten in Abessinien gesammelt worden war. Die Art, welche er *Haematopinus praecitus* nennt, wurde kürzlich von G. Enderlein[2]) als vermutlich zu seiner für die Läuse der kleinen Nagetiere [eine Art, die außer auf Spitzmäusen auch auf verschiedenen echten Mäusen lebt, bildet eine nahe verwandte eigene Gattung[3]), die Läuse des Hasen und des Kaninchens zusammen eine zweite] neu geschaffenen Gattung *Polyplax* gehörig bezeichnet (irrtümlich als *H. praecisus* Neum. angeführt).

Vor mehreren Jahren fand ich nun auf einer kleinen Ratte mit sehr dicken stachelartigen Haaren in der Sammlung des Zoologischen Museums zu Königsberg i. Pr., die nebst 2 anderen *Mus*-Arten in demselben Glase als aus Salomona in Abessinien stammend bezeichnet war, 2 weibliche Läuse, die offenbar zu Enderleins Gattung gehören, aber von Neumanns Beschreibung so weit abweichen, daß ich sie als neue Art betrachten muß. Es muß sogar dieser Art wegen die Kennzeichnung der Gattung insofern geändert werden, als der Satz „jede Pleura hinten mit 2 (selten 1) kräftigen, meist kurzen Stacheln“ auf sie nicht zutrifft. Er muß die Fassung erhalten: „Die Mehrzahl der Pleuren mit mindestens einem, meist sogar zwei kräftigen kurzen Stacheln.“ Ich gebe im folgenden die Beschreibung der neuen Art unter dem Namen (*μεῖον* weniger):

Polyplax miacantha nov. spec. ♀.

Länge 1,5—1,75 mm. Schmutzig weißgelb. Kopf gut $1^1/_2$mal so lang als breit; vor den Fühlern bogenförmig vorgezogen, so daß die Fühler gar nicht so sehr weit vorn, sondern erst etwa hinter den vordersten $^2/_5$ der Kopflänge eingelenkt sind. Am Vorderende mehrere feine Härchen, Hinterkopf jederseits mit 2 feinen Borsten vor den Hinterwinkeln. Fühler $^2/_3$ so lang als der Kopf, erstes Glied verdickt wie bei

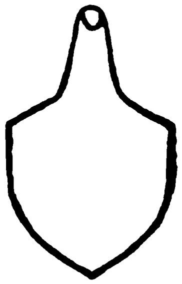
---

1) Neumann, G., Deux nouvelles Pédiculines. (Arch. de Parasitologie. Vol. V. 1902. p. 600—601.)

2) Enderlein, G., Läuse-Studien. Ueber die Morphologie, Klassifikation und systematische Stellung der Anopluren etc. (Zool. Anzeiger. Bd. XXVIII. 1904. No. 4. p. 121—147.)

3) Enderlein, G., Läuse-Studien. Nachtrag. (Zool. Anzeiger. Bd. XXVIII. No. 6. p. 220—223.)

den verwandten Arten, kürzer (bei einem Stück) oder doch nicht länger (beim anderen) als das zweite, 3 und 4 gleich lang und gleich breit, kürzer als 2, das Endglied wenig mehr als halb so dick als das vorletzte, welches an seinem hinteren unteren Rande stumpf dornartig verlängert ist. Thorax vorn schmäler als der Hinterkopf, nach hinten etwas breiter werdend, länger als hinten breit, dorsal ohne Beborstung. Ventral bleibt zwischen den Hüften ein wappenschildförmiges Sternum frei, das jedoch nicht dunkler ist als die Umgebung, und dicht hinter seinem Vorderrande, vor den Mittelhüften, durch eine helle Linie geteilt wird (? entsprechend der „tache sternale“ bei Neumann?). Vorderbeine ganz dünn und zart, mit starkem Daumenhöcker an der Tibia und winzigem Tarsenglied, mit zarter aber langer Kralle. Mittelbeine kräftiger, mit kräftigen, zwar ziemlich dicken, aber doch schlanken braunen Krallen, die etwa noch 4mal so lang als breit sind; der Daumenhöcker der Tibia ist kurz und stumpf. Die Hinterbeine sehr kräftig, kurz und gedrungen, wenn auch noch immer länger als die Mittelbeine; der Daumenhöcker der Tibien sehr breit und groß, die stumpfe Spitze ist durch eine Einkerbung, in welche die Kralle hineinpaßt, in 2 Höcker geteilt; die Kralle ist sehr auffallend braun, sehr dick und kurz, kaum doppelt so lang als an der Wurzel breit und ziemlich stumpf. Das Abdomen weicht nur, wie schon oben bemerkt, insofern von den allgemeinen Gattungskennzeichen ab, als es nur an 4 Pleuren je 1 Dorn trägt, sie entsprechen den Segmenten 4—7; sonst ist zur Beschreibung des Abdomens nichts zu bemerken.



Die Art weicht also von *Haematopinus* (oder *Polyplax?*) *praecitus* G. Neumann vor allem ab in der Gestaltung der Fühler, insbesondere von deren Endgliede, sowie anscheinend auch im Umriß des Kopfes. Der Sternalfleck bei der genannten Art ist nicht genau genug, und das Abdomen in seinen wichtigsten Merkmalen so gar nicht beschrieben, daß ein Vergleich da schwierig ist. Bemerkt sei noch, daß Neumann offenbar irrtümlich den Daumenhöcker auf das Femur verlegt, während er wohl auch bei seiner Art auf der Tibia sitzen dürfte. — Die einzige sonst aus Nordafrika bekannte Laus endlich, *Polyplax spiculifer* (Gerv.) von *Mus barbarus* (nicht *barbatus*, wie bei Enderlein irrtümlich steht) aus Algier, ist nicht ausführlich genug beschrieben, um ein völlig sicheres Urteil zuzulassen, doch scheinen auch ihre Fühler, und wiederum namentlich das Endglied, anders als bei meiner Art gestaltet zu sein.

Nachdruck verboten.

Zur Spezifität der Antikörper.

Von Dr. **H. Lüdke**, Barmen.

(Fortsetzung.)

Eine fernere Arbeit, die sich mit der Spezifität der Agglutinationsreaktion beschäftigt, ist die von **Posselt** und **v. Sagasser**[1]. Hieran schließen sich erst kürzlich veröffentlichte Untersuchungen von **Hetsch** und **Lentz**[2] aus dem kgl. Institute für Infektionskrankheiten an. Beiden Arbeiten lag, wie es scheint, das praktische Bedürfnis zu Grunde, die von **Castellani** angegebene Absorptionsmethode für die verschiedenen, im normalen wie auch Immunserum vorkommenden Agglutinine nachzuprüfen. **Castellani**[3] hatte die Frage von der Mischinfektion und ihren Agglutinationsverhältnissen mit glücklichstem Erfolge aufgenommen und war zu folgenden Schlüssen gelangt: Eine spezifische Absorption der einzelnen durch künstliche Infektion mit mehreren Bakterienarten hervorgerufenen Agglutinine ist gegeben, wenn bei totaler Absättigung mit einem Stamme die Agglutinationsfähigkeit aus dem Serum für diesen vollständig verschwindet, während alle anderen Bakterienagglutinine in ihrem Agglutinationswert unbeeinflußt bleiben. Bei der Mitagglutination dagegen verschwinden zugleich mit dem abgesättigten Agglutinin auch die übrigen Agglutinine. Erklärlich wird die letztere Tatsache dadurch, daß wir hier eine Entstehung von Partialagglutininen neben dem Hauptagglutinin annehmen müssen, deren Absorption leicht mit dem Hauptagglutinin erfolgt.

Posselt und **v. Sagasser** kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Resultat, daß man in einem Normaltierserum, wie Immun- oder Rekonvaleszentenserum noch eine andere Gruppe von Agglutininen differenzieren müsse, die eine gewisse Selbständigkeit den Absorptionsversuchen gegenüber bewahrte und die man daher in eine Stufe mit den sogenannten Partialagglutininen bei Mischinfektion zu stellen hat. Sie bezeichnen diese selbständigen Agglutinine als „Nebenagglutinine“. Allerdings nehmen sie im allgemeinen eine, wenn auch nicht rein absolute, Spezifität eines Immun- oder Krankenserums an, indem sie auf den stets die Nebenagglutinine weit übersteigenden Titrewert des Hauptagglutinins hinweisen. Jedenfalls muß man wenigstens dem Postulat beider Autoren zustimmen, in zweifelhaften Fällen jedesmal zur exaktesten Diagnose die Endgrenzen der Agglutinationsfähigkeit des betreffenden Serums für die einzelnen agglutinierten Stämme festzustellen. Eine Rechtfertigung für die Bezeichnung „Nebenagglutinine“ müßte in dem Umstande zu erkennen sein, daß **Posselt** und **v. Sagasser** nach der Absorption eines Agglutinins ein Erhaltenbleiben resp. ein Ansteigen im Werte der anderen Agglutinine konstatieren konnten. Damit steht ihr Befund im strikten Gegensatz zu den **Castellani**schen Untersuchungen. Hetsch und Lentz dagegen konnten ein Ansteigen der übrigen Agglutinine nach Absorption eines Agglutinins nicht finden. Allerdings geben sie den selbständigen Charakter der Nebenagglutinine unumwunden zu, wenngleich auch bisweilen eine Mitausfällung derselben stattfinden kann. Aber der niedrige Titrewert dieser Nebenagglutinine zwingt sie zu der richtigen Erkenntnis, daß diese in keiner Weise den Wert der spezifischen Reaktion beeinträchtigen könnten.

---

[1] **Posselt** u. **v. Sagasser**, Ueber Beeinflussung der Agglutinine durch spezifische Absorptionen, nebst Bemerkungen über den Wert der Serodiagnostik bei Typhus und Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 24.)

[2] **Hetsch** u. **Lentz**, Beitrag zur Frage nach der Spezifität der im Serum des normalen und choleraimmunisierten Pferdes enthaltenen Agglutinine. (Festschr. f. R. **Koch**. 1903.)

[3] **Castellani**, l. c.

Schon vor der Publikation von Hetsch und Lentz hatte ich ähnliche Untersuchungen unternommen, die im wesentlichen zu den gleichen Ergebnissen führten. Zunächst untersuchte ich das spezifische Verhalten der im normalen Rinderserum vorkommenden differenten Agglutinine mittels der Absorptionsmethode. Daß in einem normalen Rinderserum ziemlich hohe Agglutinationswerte für verschiedene Bakterien, speziell für Bact. typhi, sich vorfinden, war bekannt [G. Müller[1]), Verf.[2])].

Im folgenden will ich nur einige Untersuchungen über die Spezifität dieser Normalagglutinine anführen.

Die Methodik war hier, wie bei den mit Immunserum angestellten Versuchen, die: In eine bestimmte, gut agglutinierend wirkende Verdünnung des betreffenden Serums wurden die einzelnen Stämme eingetragen, indem entweder auf Schrägagar gewachsene Bakterienmassen, häufiger wiederholt, in das Serum eingebracht wurden oder eine Abschwemmung der auf Agarplatten gewachsenen Bakterien mit dem Serum vermischt wurde. Nach 2—6-stündiger Einwirkungszeit bei Zimmertemperatur wurde die Serumflüssigkeit durch energisches Zentrifugieren von den agglutinierten Bakterien völlig getrennt, so daß die überstehende klare Flüssigkeit zu den weiteren Agglutinationen benutzt werden konnte. Diese Agglutinationen wurden im hängenden Tropfen mit Oelimmersion vorgenommen; Kontrollpräparate wurden in jedem Falle zum Vergleiche herangezogen.

Normales Rinderserum I[3]).

Stamm	1:20	1:50	1:100	1:200
B. vulgare	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Flexner)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Shiga)	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+	+!	—	—
V. cholerae	—	—	—	—
B. coli	+!	—	—	—
B. paratyphi A	—	—	—	—
B. paratyphi B	—	—	—	—
B. typhi	+!	—	—	—

Dieses Rinderserum wurde in der für die meisten oben zitierten Stämme gut wirksamen Verdünnung von 1 : 20 zu je 1 ccm in kleine Reagenzröhrchen gefüllt und von Schrägagar abgeschabte Bakterienmassen eingetragen und nach ca. 6 Stunden scharf zentrifugiert. Verwandt wurden die vom Normalserum stark agglutinierten Stämme: B. vulgare, B. dysenteriae Flexner, Stamm Müller und Kruse. Nach dem Zentrifugieren war die überstehende Serumflüssigkeit nur nach der Absorption von B. vulgare vollständig klar.

---

[1]) Müller, G., Die Agglutinine normaler Tiersera. [Diss.] Bern 1901.

[2]) Lüdke, l. c.

[3]) Positive Agglutination = +; negative Agglutination = —; Grenzwert = +!.

a) Nach Absorption von B. vulgare.

Stamm	1:1	1:10	1:20	1:40
B. vulgare	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Müller)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+	+	+!	—

b) Nach Absorption von B. dysenteriae Flexner.

Stamm	1:1	1:10	1:20	1:40
B. vulgare	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Flexner)	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—

c) Nach Absorption von B. dysenteriae Müller.

Stamm	1:1	1:10	1:20	1:40	1:66
B. vulgare	+	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Flexner)	+	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—	—

d) Nach Absorption von B. dysenteriae Kruse.

Stamm	1:1	1:10	1:20	1:40	1:66
B. vulgare	+	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Müller)	+!	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—	—

Normales Rinderserum II.

Stamm	1:20	1:40	1:66	1:100	1:200	1:333
B. dysenteriae (Shiga)	+	+	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Müller)	+	+	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Kruse)	+	+	+!	—	—	—
B. vulgare	+!	—	—	—	—	—
B. coli	+	+!	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—	—
V. cholerae	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi B	—	—	—	—	—	—

Eine Agarplatte der Stämme Shiga, Flexner, Müller und B. coli wurde mit 5 ccm 0,875-proz. Kochsalzlösung abgeschwemmt und zu dieser in Kochsalzwasser fein suspendierten Bakterienaufschwemmung je 0,5 ccm — also in Verdünnung von 1 : 10 — des Normalserums hinzugefügt. Nach 6-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde energisch zentrifugiert. Die Abgüsse nach Absorption von Stamm Shiga und Flexner waren vollständig klar, nur geringe Trübung ergaben die Abgüsse nach Absorption von Stamm Müller und B. coli.

a) Nach Absorption von B. dysenteriae Shiga.

Stamm	1:1	1:10	1:20	1:40	1:66
B. dysenteriae (Shiga)	—	—	—	—	
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Müller)	+	+	+!	—	—
B. coli	+	+!	—	—	—

b) Nach Absorption von B. dysenteriae Flexner.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Flexner)	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	+	+!	—	—
B. coli	+	+	+!	

c) Nach Absorption von B. dysenteriae Müller.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Müller)	+!	—	—	—
B. coli	+	+!	—	—

d) Nach Absorption von B. coli.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Flexner)	+	+	+	+!
B. dysenteriae (Müller)	+!	—	—	—
B. coli	+!	—	—	—

Normales Rinderserum III.

Stamm	1 : 20	1 : 40	1 : 66	1 : 100
B. dysenteriae (Shiga)	+	+	+!	—
B. dysenteriae (Flexner)	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	—	—	—	—

Stamm	1 : 20	1 : 40	1 : 66	1 : 100
B. vulgare	+!	—	—	—
B. coli	—	—	—	—
B. paratyphi A	+!	—	—	—
B. paratyphi B	+	—	—	—
B. typhi Stamm 89	+	+	+!	—
B. typhi Stamm 184	+	+	+!	—

Eine Agarplatte der Stämme B. dysenteriae Shiga, B. typhi Stamm 89 und Stamm 184 wurde mit 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig abgeschwemmt und zu den 5 ccm Aufschwemmung je 0,5 ccm des Normalserums gebracht; das Gemisch tüchtig durchgeschüttelt und ca. 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Zentrifugieren verhielt sich die Agglutinationsfähigkeit der Abgüsse folgendermaßen:

a) Nach Absorption von B. dysenteriae Shiga.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	—	—	—	—
B. typhi 89	+	+	+!	—
B. typhi 184	+!	—	—	—

b) Nach Absorption von B. typhi Stamm 89.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	+	+!	—	—
B. typhi 89	—	—	—	—
B. typhi 184	—	—	—	—

c) Nach Absorption von B. typhi Stamm 184.

Stamm	1 : 1	1 : 10	1 : 20	1 : 40
B. dysenteriae (Shiga)	+	+	+!	—
B. typhi 89	+	+!	—	—
B. typhi 184	+!	—	—	—

Außer diesen 3 in Tabellen angeführten Untersuchungen normalen Rinderserums wurde noch eine weitere Anzahl in ähnlicher Weise auf die spezifischen Absorptionsverhältnisse geprüft; in allen Fällen ergab sich ein durchaus gleiches Resultat.

Einmal müssen wir bei diesen Agglutinationsproben durch normales Rinderserum eine erhebliche agglutinierende Kraft auf verschiedene Bakterienarten konstatieren. Im Gegensatz zu den Befunden mit Kaninchen- und Meerschweinchenserum, dessen agglutinierende Kraft auf Dysenteriebacillen nach P. Th. Müller[1]) und Posselt und v. Sagasser[2]) eine sehr geringfügige ist, fand ich beim Rinderserum häufiger höhere Werte (bis 1 : 200) für einzelne Ruhrstämme.

Wir können für diese erheblich hohen Agglutinationswerte bislang keine genügende Erklärung abgeben; am ehesten müssen wir sie als bei Stoffwechselprozessen nebenher abgestoßene Zellrezeptoren auffassen. Erklärlich erscheint bei diesen hohen Werten auch die Forderung Kolles[3]), zur Erhaltung eines absolut spezifischen hochwertigen Immunserums solche Tiere zu benutzen, deren Agglutinationskraft im normalen Zustand nur minimal ist resp. bei denen dieselbe gänzlich fehlt. Inwieweit solche normalen Agglutinine bei Herstellung von Immunseris die Ausbildung der spezifischen Agglutinine beeinflussen können, werden wir weiter sehen.

Ein Vorherrschen einer Bakterienart im Agglutinationscharakter des normalen Serums konnte ich in zahlreichen Untersuchungen nicht erkennen; vielmehr ergab sich eine — vielleicht scheinbar nur — wahllose Einstellung auf verschiedene Arten.

Es gelang nun durchaus nicht in jedem Falle, eine völlige Absorption der einzelnen Agglutinine für ihre Bakterienart zu erzielen; häufig genug war die überstehende Serumflüssigkeit noch mehr oder weniger stark getrübt; die mikroskopische Beobachtung im hängenden Tropfen ergab in gleicher Weise öfter eine nur schwache Absorption des betreffenden Stammes durch sein spezifisches Agglutinin.

Mit Hetsch und Lentz übereinstimmend, konnten wir nach Absorption einer bestimmten Bakterienart eine Mitausfällung anderer Arten wahrnehmen; niemals trat, was Posselt und v. Sagasser behaupten, ein Steigen im Agglutinationswert der nicht beeinflußten Agglutinine ein; in der weitaus größten Zahl der Untersuchungen fand ein stärkeres Abnehmen des Agglutinationswertes für nicht zur Absorption gebrachte Bakterien statt.

In anderen Versuchsreihen wurde die Beeinflussung eines Immunserums auf nicht zur Vorbehandlung verwandte, jedoch mit verwandtem Rezeptorenapparat versehene Bakterien und die spezifische Absorption der einzelnen Komponenten des Bakterienleibes geprüft. Dabei knüpfte ich an einen bereits früher von mir publizierten Fall einer Mitagglutination von Bact. typhi durch ein mit Proteus-Bacillen infiziertes Kaninchenblutserum an[4]).

Agglutination von Bact. proteus durch Typhusimmunserum wurde in mehreren Fällen von verschiedenen Autoren gefunden, während das umgekehrte Verhältnis bisher in nur 2 Fällen erwähnt wurde. Lubowski und Steinberg[5]) berichten über 2 Fälle von Otitis media, in denen das Serum Bact. typhi wie Proteus-Bacillen in höheren Verdünnungsgraden agglutinierte und fanden in diesbezüglichen Tierversuchen, daß eine Agglutination des Bact. typhi bisweilen nach einer Infektion mit Bact. proteus stattfinden kann. Einen ähnlichen experimentellen Beweis für eine stärkere Agglutination des Typhusbakterium infolge einer Proteus-Infektion konnte auch Verf. erbringen. In neuerlichen Untersuchungen fand ich diesen Befund vollauf bestätigt.

---

[1]) Müller, Th. P., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. No. 12.

[2]) Posselt u. v. Sagasser, l. c.

[3]) Kolle, Die Spezifität der Infektionserreger. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen. 1902. 2. Lief.)

[4]) Lüdke, l. c.

[5]) Lubowski und Steinberg, Ueber Agglutination von Typhusbacillen bei Proteus- und Staphylokokkeninfektion. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX. Heft 5/6.)

Ganz besonders will ich jedoch hier hervorheben, daß es weder Lubowski und Steinberg noch mir bei wiederholten Versuchen gelang, Proteus-Bacillen durch hochwertiges Typhusimmunserum zur stärkeren Agglutination zu bringen; während ein sehr hoher Agglutinationstitre für Bact. typhi erreicht wurde, agglutinierte das Immunserum Bact. proteus höchstens in einer Verdünnung von 1 : 20.

Wir müssen uns daher auf Grund dieser Erfahrungen in striktesten Gegensatz zu den Befunden anderer Autoren setzen, die eine stärkere Mitbeeinflussung von Proteus-Bacillen durch Typhusimmunserum annehmen. Lubowski und Steinberg machten die damit übereinstimmende Beobachtung, daß gegen Cholera hochimmunisierte Kaninchensera zu keinem Zeitpunkt der Behandlung einen Bacillus der Typhusgruppe agglutinierten.

Es folgen die Versuche einer Immunisation mit Proteus-Bacillen.

Experiment I.

Einem kräftigen, grauen, weiblichen Kaninchen von 1970 g Gewicht wurden am 29. Juli 1904 5 ccm einer bei 60° abgetöteten Proteus-Bouillonkultur subkutan injiziert. Vor den Injektionen agglutinierte das Serum dieses Kaninchens in einer Verdünnung von 1 : 20 weder Bact. proteus noch B. typhi, B. paratyphi A, B. paratyphi B, B. dysenteriae, Stamm Shiga, Stamm Kruse, Stamm Müller, B. coli, V. cholerae; in der Verdünnung 1 : 20 nur andeutungsweise B. dysenteriae, Stamm Flexner.

Am 3. August 1904 wurde $^1/_8$ Oese lebender Kultur intravenös injiziert; Gewicht 1970 g.

Am 20. August 1904 wurde 1 Oese lebender 24-stündiger Agarkultur injiziert; Gewicht 1800 g.

Am 12. September 1904 wurde $1^1/_2$ Oese lebender 24-stündiger Agarkultur injiziert; Gewicht 1895 g.

Am 21. September 1904 wurde das Tier getötet; das Blut zur Serumgewinnung aufgefangen.

Das Serum dieses Proteus-immunen Kaninchens zeigte erst nach der 2. Injektion (lebende Kultur) eine erhöhte Agglutinationsfähigkeit gegen Proteus-Bacillen; Bact. typhi wurde erst nach der 3. Injektion in höherer Verdünnung, bei 1 : 50, gut agglutiniert. Nach der 5. Injektion waren die Agglutinationsverhältnisse diese: Bact. proteus bei einer Verdünnung von 1 : 8000 noch gut agglutiniert, Bact. typhi bei 1 : 66 vollständig, bei 1 : 100 noch andeutungsweise zusammengeballt. Außer dem Bact. typhi wurde am letzten Termin der Blutentnahme noch B. dysenteriae Kruse in einer Verdünnung von 1 : 66 wirksam agglutiniert, desgleichen Bact. coli, letzteres ergab bei Verdünnung 1 : 100 nur Spur von Häufchenbildung. Die übrigen vor den Injektionen auf Agglutination geprüften Stämme, B. cholerae, B. dysenteriae Shiga, B. dysenteriae Müller, wurden nicht weiter beeinflußt. Auch auf Paratyphusbacillen konnte keine höhere Agglutinationsfähigkeit dieses Immunserums erkannt werden. Der bequemeren Uebersicht wegen will ich die Agglutinationsverhältnisse dieses Kaninchenserums vor und nach den Injektionen tabellarisch veranschaulichen:

I. Vor den Injektionen.

Stamm	1:10	1:20	1:40
B. proteus	—	—	—
B. coli	+!	—	—
B. typhi	—	—	—
B. paratyphi A	—	—	—
B. paratyphi B	—	—	—
B. dysenteriae (Shiga)	+!	—	—

Stamm	1:10	1:20	1:40
B. dysenteriae (Flexner)	+	+!	—
B. dysenteriae (Kruse)	—	—	—
B. dysenteriae (Müller)	—	—	—
V. cholerae	—	—	—

II. Nach den Injektionen.

Stamm	1:20	1:40	1:66	1:100	1:8000
B. proteus	+	+	+	+	+!
B. coli	+	+	+	+!	—
B. typhi	+	+	+	+!	—
B. paratyphi A	—	—	—	—	—
B. paratyphi B	+!	—	—	—	—
B. dysenteriae (Shiga)	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Flexner)	+!	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+	+	+!	—	—
B. dysenteriae (Müller)	—	—	—	—	—
V. cholerae	—	—	—	—	—

Die Absorptionsversuche wurden in der gleichen Weise, wie bei den Normalseris beschrieben, angestellt.

III. Absorptionsversuche.

a) Nach Bindung an B. proteus.

Stamm	1:20	1:40	1:66	1:100	1:2000	1:5000	1:8000
B. proteus	+	+	+	+	+!	—	—
B. typhi	+!	—	—	—	—	—	—
B. coli	+	+!	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	—	—	—	—	—	—	—

b) Nach Bindung an B. typhi

Stamm	1:20	1:40	1:66	1:100	1:2000	1:5000	1:8000
B. proteus	+	+	+	+	+	+!	—
B. typhi	+!	—	—	—	—	—	—
B. coli	+!	—	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—	—	—	—

c) Nach Bindung an B. coli.

Stamm	1:20	1:40	1:100	1:2000	1:5000	1:8000
B. proteus	+	+	+	+!	—	—
B. typhi	+	+!	—	—	—	—
B. coli	+!	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—	—	—

d) Nach Bindung an B. dysenteriae Kruse.

Stamm	1:20	1:40	1:100	1:2000	1:5000	1:8000
B. proteus	+	+	+	+!	—	—
B. typhi	+	+!	—	—	—	—
B. coli	+!	—	—	—	—	—
B. dysenteriae (Kruse)	+!	—	—	—	—	—

Schon der niedrige Agglutinationstitre für die mitagglutinierten Bacillen — in Verdünnung 1 : 100 wurden B. typhi und B. coli noch in Spuren agglutiniert — gegenüber dem hohen Wert (1 : 8000) für den zur Immunisation verwandten Stamm spricht entschieden gegen die Auffassung, daß ein hochwertiges Immunserum für die diagnostische Erkenntnis des infizierenden Mikroorganismus nicht genügend spezifisch sei. In dem gleichzeitigen Ansteigen des Agglutinationswertes für Bact. typhi, B. coli und Stamm Kruse erkennen wir lediglich wieder den Ausdruck einer Gruppenverwandtschaft des Mikroorganismus; im Protoplasmaleib der zur Verwendung gelangten Bakterien müssen wir verwandte Agglutininrezeptoren annehmen. Diese im chemischen Aufbau des Bakterienleibes gegebene Affinität braucht, wie bei den benutzten Stämmen ersichtlich, durchaus nicht mit der systematischen Familienverwandtschaft zusammenzufallen.

Es erscheint erklärlich, wenn einzelne Komponenten des Bakteriums, die beim Zerfall desselben in der Blutbahn zur freieren Wirksamkeit gelangen, kraft ihres stärker ausgeprägten individuellen Charakters eine stärkere Abstoßung von dazu passenden Rezeptoren veranlassen. Vielleicht werden auch in der größeren Mehrzahl der Fälle schon in minimaler Intensität im Blute kreisende Normalagglutinine durch den spezifischen Reiz in ihrer Wirksamkeit verstärkt.

Wie ferner Lubowski und Steinberg berichten, findet häufiger bei fortgesetzten Immunisierungen ein Absinken des Agglutinationswertes der mitagglutinierten Bakterien statt, was auf Schwankungen im Agglutinationstitre solcher normalen, labilen Agglutinine zurückzuführen ist. Nach allem liegt demnach nicht der geringste Grund vor, an einer direkten absoluten Spezifität eines hochwertigen Immunserums zu zweifeln.

Die Absorptionsversuche boten ein den spezifischen Absorptionsversuchen der früher erwähnten Immunkörper ähnliches Bild. Nach der Absorption des zur Immunisation benutzten Proteus-Stammes war der Agglutinationswert für sämtliche mitagglutinierte Bakterien stark gesunken; ein Beweis für die Anschauung Castellanis. Es erscheint bei der schwierigen Versuchsmethodik selbstverständlich, daß keine **völlige** Ausfällung der spezifischen Agglutinine erreicht werden konnte. Aus den übrigen Absorptionsversuchen geht weiterhin deutlich hervor, daß eine, wenn auch nicht vollkommene, spezifische Bindung der einzelnen Agglutininfraktionen an ihre spezifischen Bakterien stattfand. Danach scheint mir mit Hetsch und Lentz die spezifische Ausfällungsmethode für die praktische Verwertung der Identifizierung einer bestimmten Bakterienart von nur geringem Nutzen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Berichtigung.

Von **M. Löwit,** Innsbruck.

M. A. Rodet[1]) hat vor kurzem Einwendungen gegen jenen Teil meiner Beobachtungen über Niederschlagsbildung bei der Agglutination erhoben[2]), der sich auf die Desagglutination bezieht. Ich kann dieselben hier in Kürze berichtigen, da Rodet mir Behauptungen zuschreibt, die ich niemals gemacht habe.

Rodet führt die von mir angegebene Beobachtung an, daß die im Normalserum von Kaninchen agglutinierten Typhusbacillen durch kurzes Erwärmen (2—5 Minuten) auf 55—60° C wieder desagglutiniert werden, eine Erscheinung, die ich am Normalserum von Meerschweinchen nicht beobachtet habe. Rodet führt dann wörtlich an (p. 715): „L. explique cette désagglutination par la chaleur modérée, en supposant que la chaleur a pour effet dans ce cas de détruire la combinaison de l'agglutinine avec la substance bacillaire, de séparer l'agglutinine des bacilles; d'ou il conclut que, dans l'agglutination par les sérums normaux, par certains sérums du moins, l'union entre la substance bacillaire et l'agglutinine est moins intime, moins solide, quelle ne l'est dans les cas des agglutinines spécifiques." Aber eine so scharfe Unterscheidung zwischen der Agglutination im Normal- und im Immunserum habe ich nie gemacht, und ich kann mir nur vorstellen, daß Rodet auf Grund einer mangelhaften Uebersetzung meiner Mitteilung zu einem derartigen Mißverständnisse geführt wurde.

Meine Angaben über die verschiedene Desagglutinierbarkeit agglutinierter Mikroben durch Wärme, Säuren und Alkali (p. 162, 163) beziehen sich vorwiegend auf Normalsera verschiedener Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen). Der von mir dort angeführte Satz, der wahrscheinlich die Grundlage des Mißverständnisses bildet (p. 163): „Hier scheint also die Bindung zwischen Agglutinin und agglutinabler Substanz eine festere und die Desagglutination der agglutinierten Mikroben eine schwerere als im Normalserum zu sein", bezieht sich ausschließlich, wie dort ganz klar ausgeführt ist, auf die differenten Verhältnisse im Normalserum von Kaninchen und Meerschweinchen. Auf die chemischen Differenzen der agglutinierten Mikroben im Normalserum und im Immunserum der gleichen Tierart bin ich dort näher nicht eingegangen und möchte das auch heute nicht tun, da ich diese Frage noch nicht für spruchreif halte.

Auch bezüglich der Deutung der Desagglutination habe ich mir die größte Reserve auferlegt und habe von einer Trennung des Agglutinins von den Bacillen bei der Desagglutination (séparer l'agglutinine des bacilles) nirgends gesprochen. Ich habe vielmehr die Desagglutination nur ganz im allgemeinen auf eine Aufhebung der Bindung zwischen Agglutinin und agglutinabler Substanz zurückgeführt, wobei ich aber auf die Möglichkeit einer anderen, von anderen Autoren bereits vorgenommenen Deutung hingewiesen habe (p. 163). Selbst der von mir

---

1) Rodet, M. A., A propos de la propriété agglutinative de certains sérums normaux pour le bacille d'Eberth. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 714.)

2) Ebendaselbst. Bd. XXXIV. 1903. p. 156 u. 251.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

nachgewiesene Umstand, daß man nach erfolgter Desagglutination der Mikroben (im Normal- und Immunserum) die Niederschlagsbildungen um die Mikroben und die sogenannten „Anhängsel“ derselben nicht mehr nachweisen kann, wurde nicht ausschließlich als der Ausdruck einer durch die Desagglutination erfolgten Lösung der Zwischensubstanz in den agglutinierten Haufen und der sogenannten „Anhängsel“ an den freien Mikroben gedeutet (p. 253).

Weiterhin wendet Rodet gegen die mir zugeschriebene Deutung der Desagglutination ein, daß vorher auf 55—60° erwärmtes Normalserum vom Kaninchen Typhusbacillen nicht mehr zu agglutinieren vermag, woraus er auf eine Destruktion oder Alteration des Agglutinins schließt. Rodet meint daher, daß auch bei der Desagglutination bereits agglutinierter Mikroben durch Wärme eine analoge Veränderung Platz greifen muß. Demgegenüber sei aber doch bemerkt, daß die beiden Beobachtungen direkt miteinander nicht identifiziert werden können, denn es ist ja leicht, sich davon zu überzeugen, daß nach erfolgter Agglutination in der Regel freies Agglutinin nicht mehr vorhanden, dasselbe vielmehr von den Mikroben gebunden ist und auch nach erfolgter Desagglutination als freies Agglutinin in der Regel nicht mehr nachweisbar ist. Deshalb entspricht auch die von Rodet gemachte Voraussetzung, daß die durch Wärme desagglutinierten Bacillen bei Abkühlung des Serums wieder agglutiniert werden müßten, den tatsächlichen Verhältnissen nicht, ohne eine bestimmte Entscheidung bezüglich der Frage nach der Zerstörung oder Alteration des Agglutinins infolge des gelinden Erwärmens wegen differenter Bedingungen in den beiden Beobachtungen zu ermöglichen, denn nach erfolgter Desagglutination im Serum ist eben freies Agglutinin in der Regel nicht mehr vorhanden. Es bedarf aber die Frage, ob das im Serum freie, nicht an die Mikroben gebundene Agglutinin durch desagglutinierende Mittel in der gleichen Weise wie das nach der Agglutination an die Mikroben gebundene beeinflußt wird, wohl einer gesonderten Prüfung, selbst wenn man die Annahme einer Lösung der agglutinierten Substanz als Ursache der Desagglutination vollständig vernachlässigen wollte, was gewiß gleichfalls nicht als zulässig bezeichnet werden könnte.

So viel glaubte ich zur Richtigstellung der von Rodet erhobenen Einwendungen anführen zu sollen.

Nachdruck verboten.

Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von **Julius Kerner,** cand. med.

(Schluß.)

Damit wurde die Existenz der hämolytischen Eigenschaften in den Filtraten nachgewiesen, obschon die Menge der Hämolysine in den Filtraten im Vergleich zu den nicht filtrierten Kulturen bedeutend abgenommen hat. Einen deutlichen Unterschied in der Wirkung einzelner

Filtrate auf verschiedene Blutarten konnte ich nicht konstatieren. In ähnlicher Weise konnte ich hämolytische Filtrate von Streptococcus B erhalten, deren Eigenschaften mit denjenigen von Streptococcus M übereinstimmend sind: mäßige Intensität, labile Konstitution, keine mit Deutlichkeit nachweisbare Spezifizität für bestimmte Blutarten. Die Filtrate der virulenten Streptokokkenkulturen waren in Menge von 0,5 ccm für kleine Versuchstiere nicht schädlich.

B. Agglutination der Streptokokken.

Der eigentlichen Schilderung der Resultate, die ich bei der Prüfung der agglutinierenden Eigenschaften einzelner Streptokokkensera erhalten habe, möchte ich einige Bemerkungen über die Methoden, die ich für die Herstellung der agglutinierenden Sera und für die Prüfung der Wertigkeit derselben verwendet habe, vorausschicken.

Für die Immunisierung der Kaninchen B I und B II benutzte ich die halbstündig auf 65° C erhitzten 1-tägigen Zuckerbouillonkulturen des hochpathogenen Stammes B; die erhitzten Kulturen waren auf Sterilität geprüft worden. Das erste Tier (B I) wurde intravenös, das zweite (B II) intraperitoneal injiziert, wobei die Einzeldosis im Laufe von 3 Monaten allmählich von 0,5 auf 10,0 ccm gesteigert wurde. Beide Kaninchen reagierten nach der Injektion, und es war fast regelmäßig eine Gewichtsabnahme von 50—200 g zu beobachten; die nächste Injektion wurde ungefähr nach 10 Tagen ausgeführt, nachdem das ursprüngliche Körpergewicht wiedererlangt worden war. Die Wertigkeit des Serums des ersten, intravenös injizierten Tieres war bedeutend höher als diejenige des zweiten, mit intraperitonealen Injektionen behandelten Kaninchens (1:3200 gegenüber 1:400). Den Unterschied konnte ich aber kaum auf die Verschiedenheit der Injektionsstellen zurückführen, da die Wertigkeit des zweiten Serums doch nicht gestiegen war, nachdem ich das zweite Tier gleich dem ersten auch mit intravenösen Injektionen zu behandeln begonnen hatte. Bei der Immunisierung des dritten Kaninchens (P) mit dem ebenfalls hochpathogenen Stamm P verwendete ich 3 Monate alte, nicht erhitzte, bei Zimmertemperatur im Dunkeln autbewahrte Zuckerbouillonkulturen, die sich auch als steril gezeigt hatten. Die Injektionen wurden intravenös vorgenommen, die Dosierung war annähernd die gleiche, wie in den ersten 2 Fällen. Die Agglutinationswertigkeit dieses Serums war viel höher (1:25000) als diejenige der beiden ersten Sera; die Reaktion des Kaninchens war gering. Das vierte Tier (K) wurde mit dem Streptokokkenstamm K behandelt; die Kultur, welche aus dem Blute eines an Endocarditis septica leidenden Kindes gewonnen worden war, erwies sich als nichtpathogen für die Versuchstiere. Es wurden daher von Anfang an große Dosen (10,0 ccm auf einmal) intraperitoneal oder intravenös injiziert. Eine Reaktion (Gewichtsabnahme) war nicht zu beobachten. Im Gegensatz zu den anderen mit virulenten Stämmen vorbehandelten Tieren zeigte das Serum des Kaninchens K auch nach wiederholten (7) Injektionen nur geringe agglutinierende Eigenschaften (1:200). Es wurde versucht, die Agglutininbildung mittelst gleichzeitiger Injektionen von Proteus vulgaris zu steigern. Gleichzeitig mit den Streptococcus-Kulturen wurden 1-tägige $^1/_2$ Stunde lang auf 65° C erhitzte, sterile Bouillonkulturen von Proteus vulgaris in Dosen von 0,5 bis 5,0 ccm injiziert. Das Tier reagierte sehr deutlich, die Agglutinations-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

wertigkeit des Serums ist sofort gestiegen und erreichte bis 1:3200. Leider fehlt es mir hier an Versuchen, um diesen scheinbaren Zusammenhang weiter zu verfolgen.

Was die Steigerung der Agglutinationswertigkeit im Laufe der Immunisierung anbetrifft, so zeigte es sich, daß der Höhepunkt zwischen dem 2. und 4. Monate der Immunisation liegt; die Kurve bleibt eine Zeitlang auf derselben Höhe, fällt dann etwas ab und steigt trotz weiteren Injektionen nicht mehr. Sechs Monate nach der letzten Injektion sind keine Spuren von Agglutininen mehr vorhanden. Aus äußeren Gründen konnte ich das Verlorengehen der Agglutinine während der Ferien nicht genau verfolgen. Wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist, verhält sich die Agglutininbildung nicht direkt proportional der Zahl der Injektionen oder der injizierten Menge von Streptokokkenkulturen. Dieselbe Beobachtung wurde von Stäubli und in neuester Zeit von Nicolle bei der Bildung der Typhusagglutinine gemacht.

Tabelle No. 7.

Bildung von Streptokokken-Agglutininen im Serum vorbehandelter Kaninchen.

Bezeichnung des Tieres	Agglutinationswertigkeit mit dem homologen Stamm	Maximum der Agglutinine im Serum nach	Gesamtmenge der injizierten Kulturen	Zahl der Injektionen	Injizierte Kulturen
B I	1:3200	$3^{1}/_{2}$ Mon.	70 ccm	14	Erhitzte Kulturen von Str. B
B II	1:400	3 „	40 „	10	„ „ „ Str. B
P	1:25000	2 „	20 „	7	Alte Kulturen von Str. P
K	1:3200	4 „	130 „ 30 „	13	Lebende, 1-täg. Kulturen von Str. K Erhitzte Kulturen von Prot. vulg.

Die Prüfung der Agglutination wurde mikroskopisch und makroskopisch vorgenommen. Für die Herstellung der Verdünnungen verwendete ich mit geringen Modifikationen die von Pröscher angegebene Methode. Dieselbe Methode diente mir auch für makroskopische Untersuchungen, mit dem Unterschiede, daß ich bei der Herstellung der Präparate im hängenden Tropfen Aufschwemmungen der 1-tägigen Agarkulturen in Bouillon + 0,8-proz. NaCl-Lösung, für die Agglutination im Reaganzglase hingegen Bouillonkulturen + 0,8-proz. NaCl-Lösung verwendet habe. In allen Fällen betrug die Menge der physiologischen Kochsalzlösung $^{1}/_{10}$ der Gesamtmenge. Bekanntlich tritt die Agglutination mit unbeweglichen Bakterien später ein, als mit beweglichen Mikroorganismen. In meinen Versuchen war die Häufchenbildung der Streptokokken mit wirksamen Seren häufig schon nach einigen Minuten sichtbar, in stärkeren Verdünnungen erst nach Stunden. Als längste Beobachtungsdauer für die Feststellung der Agglutination im hängenden Tropfen und im Reagenzglas wurde die Zeit von 18 Stunden angenommen. Für die Prüfung der Agglutination im Reagenzglase wurden die von Ficker für die makroskopische Typhusagglutination angegebenen Röhrchen verwendet.

Den größten Wert legte ich auf das Verhalten der Kontrollpräparate, da viele Streptokokken eine große Neigung haben, Pseudohäufchen zu bilden, die die Agglutination vortäuschen können. Es zeigen zwar die Pseudohäufchen nur selten die für die agglutinierten Streptokokken charakteristische zweigartige Anordnung der Ketten; vielmehr sind die

Pseudohäufchen im hängenden Tropfen von kompakterem, dichterem Aussehen; ferner beginnt die Pseudohäufchenbildung nicht in der charakteristischen Weise wie die Agglutination, indem im letzteren Falle zuerst die Diplokokkenformen sich allmählich an die längeren Ketten seitlich anschmiegen, dann ziehen sich alle diese zweigartigen Ketten über das Gesichtsfeld zusammen. Und doch sehen hier und da die Pseudohäufchen der Agglutination so ähnlich, daß nur die Besichtigung des Kontrollpräparates, wo kein Serum zugefügt wurde, die Entscheidung geben kann. Auch bei der makroskopischen Reaktion ist das Verhalten des Kontrollröhrchens von großer Wichtigkeit und ist sogar einzig und allein maßgebend. Um die Pseudohäufchenbildung zu vermeiden, verfuhr ich in der Weise, daß ich durch die Aufschwemmungen der Agarkulturen oder durch die Bouillonkulturen etwa 5—10 Minuten lang die Luft durchströmen ließ. Das Resultat dieses Verfahrens war im allgemeinen sehr günstig, nur in 2 Kulturen (Er. und Rach. I) trat die Pseudohäufchenbildung stets auf, und zwar sofort nach der Herstellung der Präparate, so daß diese Stämme nicht genau untersucht werden konnten.

In der folgenden Tabelle No. 8 stelle ich die Resultate zusammen, die ich bei der wiederholten Prüfung der Streptokokken von verschiedener Herkunft mit 3 Serumarten erhalten habe. Es sind dieselben 16 Stämme, deren hämolytische Eigenschaften ich oben geschildert habe. Vergleichende Untersuchungen mit Serum B II wurden wegen der geringen Wertigkeit desselben nicht ausgeführt.

Tabelle No. 8.

Agglutination der Streptokokken mit homologem und heterologem Serum.

Streptokokkenstamm	Serum B I		Serum P		Serum K	
	mikr.Agg.	makr. Agg.	mikr. Agg.	makr. Agg.	mikr. Agg.	makr. Agg.
B	1:3200	1:3200	1:400	1:100	—	—
P	1:800	1:800	1:25 000	1:12 800	—	—
M	1:800	1:1600	1:800	1:800	—	—
A	1:800	1:800	1:200	1:100	1:50	—
K	—	—	—	—	1:3200	1:800
Sch. I	—	—	—	—	1:100	1:50
Sch. II	1:200	1:50	1:200	1:50	1:100	1:50
Er.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.
W.	1:100	1:50	1:50	—	—	—
Me.	1:50	—	1:50	1:30	—	—
In.	—	—	—	—	1:50	—
C	1:200	—	1:200	1:100	1:50	
Roch. I	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.	Pseudo.
Roch. II	1:50	—	1:50	—	—	—
Jon.	1:100	1:30	—	—	—	—
Phl.	1:50	—	1:50	1:30	—	—

Bevor ich zur näheren Betrachtung dieser Tabelle übergehe, will ich einige Ansichten der Autoren über die Spezifizität der Streptokokkenagglutination in Kürze anführen. Die erste Publikation über die Agglutination der Streptokokken lieferte 1897 Van de Velde; die Streptokokkenagglutination wurde nur mit dem homologen Serum erhalten. In späteren Untersuchungen von Marmorek, Aronson, Neufeld ist aber festgestellt worden, daß die Streptokokken auch in heterologen Streptokokkenseren agglutiniert werden können; dagegen wurde die Frage über die Differenzierung von pathogenen und nicht pathogenen Streptokokken nicht übereinstimmend beantwortet. In neuerer Zeit ist hauptsächlich die Frage über die Spezifizität der Scharlachstreptokokken zahlreichen Untersuchungen unterworfen worden; es gehen aber die Ansichten der Autoren weit auseinander; die meisten Forscher neigen aber dazu, keine Spezifizität der aus Scharlachfällen gewonnenen Streptokokken anzunehmen, und zwar auf Grund der Agglutinationsreaktion. So konnten z. B. Besredka und Dopter keinen Unterschied in der Agglutination der Scharlach- und der gewöhnlichen Streptokokken konstatieren. Jogischess hat keine Spezifizität der Sera der scharlachkranken Menschen gegenüber den verschiedenen Streptokokkenstämmen in Bezug auf die Agglutination gesehen. Neufeld leugnet die Spezifizität der Scharlachstreptokokken ebenfalls, indem er bei der Agglutination nicht die Spezifizität, sondern die Virulenz der Streptokokken für maßgebend hält.

Kehren wir zu der Tabelle No. 8 zurück, so muß konstatiert werden, daß die erhaltenen Resultate ein allgemein gültiges Gesetz in Bezug auf die Agglutination der Streptokokken nicht aufzustellen gestatten. Ich will nicht die Frage beantworten, ob die Agglutination eine Identifizierung bezw. Differenzierung der untersuchten Streptokokken gestattet. Es genügt hervorzuheben, daß die 3 für Kaninchen hoch pathogenen Streptokokken verschiedener Herkunft sich in Bezug auf die Agglutination ähnlich verhielten, um die Vermutung auszusprechen, daß bei der Agglutination der Streptokokken die Anpassung eine große Rolle spielt. Es gelingt durch Injektionen virulenter Stämme (die Tiere wurden mit erhitzten jungen Kulturen oder mit älteren, mehrere Monate alten Kulturen vorbehandelt) ein Serum zu erhalten, welches den betreffenden Streptococcus deutlich agglutiniert. Diese Agglutination ist nachweisbar im hängenden Tropfen sowohl wie im Reagenzglas; letztere Methode lieferte in der Regel etwas niedrigere Werte. Am stärksten wurde der homologe Stamm agglutiniert; von den übrigen vergleichsweise geprüften Kulturen ließen sich diejenigen Streptokokken am deutlichsten agglutinieren, welche für Kaninchen pathogen waren. Die nicht pathogenen oder auf Pathogenität nicht genau geprüften Streptokokken wurden nicht oder nur in geringerem Grade agglutiniert. Scharfe Grenzen lassen sich aber in Bezug auf das Agglutinationsvermögen nicht ziehen, und eine Einteilung der Streptokokken je nach ihrem Verhalten gegenüber den agglutinierenden Eigenschaften des Immunserums ist nicht möglich.

Eine besondere Besprechung erheischt das Kaninchen K. Wie weiter oben angeführt, stammt der Streptococcus K aus dem Blute eines an septischer Endocarditis erkrankten Kindes. Dieser Streptococcus wurde auch in hohen Dosen reaktionslos ertragen, und das Serum lieferte geringe Werte, bis gleichzeitig eine abgetötete Proteus-Kultur zusammen mit dem Streptococcus injiziert wurde. Es gelang dann, ein bis auf 3200 agglutinierendes Serum zu erhalten, welches die pathogenen Stämme nicht agglutinierte (B, P und M), währenddem 5 von den übrigen Kulturen eine geringe Agglutination (bis 1 : 100) zeigten.

Was die 2 Scharlachstämme anbelangt, so wurde einer von derselben (Scharlachabsceß) von allen 3 Serumarten bis 1:200 agglutiniert, der andere (Scharlachblut) wurde nur von Serum K bis 1 : 100 agglutiniert.

Erwähnt sei, daß Streptokokken, mit Immunserum vermengt, in Präparaten im hängenden Tropfen häufig lange Ketten bilden, viel länger, als in gewöhnlichen Kulturen. Diese „Kettenreaktion“ war bei den meisten Stämmen zu beobachten. Ein Parallelismus zwischen derselben und der Agglutinationsreaktion läßt sich aber nicht aufstellen.

Nachdem die vorliegenden Untersuchungen abgeschlossen waren, erschien aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern eine Arbeit von Fischer über die Beobachtung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. Die in dieser Arbeit mitgeteilten Resultate stimmen im allgemeinen mit den unserigen überein.

Streptokokkenpräzipitation. Die Präzipitation der Streptokokken wurde mit 3—4 Monate lang bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrten Bouillonkulturen vorgenommen. Es wurde die obere klare Schicht sorgfältig entnommen und ähnlich wie bei Untersuchungen auf Agglutination mit bestimmten Mengen Serum vermengt. In der Tabelle No. 9 sind die Resultate dieser Versuche zusammengestellt.

Tabelle No. 9.
Präzipitine in älteren Bouillonkulturen von Streptokokken.

Serum	Streptococcus	Präzipitationswerte			
		1:10	1:30	1:100	1:200
B I	B	deutlich	—	—	—
B I	K	—	—	—	—
B II	B	—	—	—	—
P	P	sehr deutl.	deutlich	deutlich	—
P	B	deutlich	—	—	—
P	K	—	—	—	—
K	K	—	—	—	—

Wie dies von anderen Autoren angegeben worden ist, sind die Präzipitinwerte viel kleiner, als die bei der Agglutinationsreaktion erhaltenen.

Schlußfolgerungen.

A. Hämolyse der Streptokokken.

1) Von den 16 untersuchten Streptokokkenstämmen verschiedener Herkunft und verschiedener Virulenz für Versuchstiere zeigten 11 deutlich hämolytische Eigenschaften. Bei den 3 hochpathogenen Stämmen war die Hämolyse besonders stark; von den 7 für Tiere nicht pathogenen Stämmen hämolysierten nur 2 aus Fällen von Scharlach gewonnenen Streptokokken.

2) Die Höhe der burgunderroten Verfärbung des Bouillonröhrchens ist unter gleichen Versuchsanordnungen ziemlich konstant und gestattet eine Messung des hämolytischen Vermögens.

3) Auf Agar mit Blutzusatz bildet sich ein heller Hof rings um die Streptokokkenkolonie herum. Die Reaktion ist sehr empfindlich, scheint aber für quantative Bestimmungen nicht geeignet.

4) Der direkt aus dem Tierkörper stammende Streptococcus wirkt besonders stark hämolytisch; die Ueberimpfung auf künstliche Nährböden, insbesondere auf Zuckerbouillon, setzt das hämolytische Vermögen bedeutend herab.

5) Bei Aufbewahrung der Bouillonkulturen bei Zimmertemperatur bleiben die hämolytischen Eigenschaften in den ersten 7—14 Tagen ziemlich konstant, dann nehmen sie allmählich ab.

6) Ein Zusatz von 2 Proz. Kochsalz zu der Bouillon wirkt hemmend auf die Hämolyse.

7) Eine 30 Minuten lang dauernde Erhitzung der Streptokokkenkulturen auf 55° C genügt, um die Hämolyse vollständig aufzuheben; nach 15 Minuten lang dauernder Erhitzung auf 55° C wird die Hämolyse schon bedeutend abgeschwächt. Aehnlich verhalten sich die hämolytischen Filtrate.

8) Filtrate von Bouillonkulturen von Streptokokken zeigten keine hämolytische Wirkung; hingegen gelang es, hämolytisch wirkende Filtrate zu erhalten aus Kulturen in flüssigem Blutserum. Die hämolytische Wirkung dieser Filtrate war schwächer als diejenige der nicht filtrierten Kulturen und nicht spezifisch gegenüber der einzelner Blutarten.

B. Agglutination der Streptokokken.

9) Mittelst wiederholter Injektionen von erhitzten oder älteren Kulturen eines hoch pathogenen Streptococcus gelingt es, ein Serum zu erhalten, welches gegenüber dem betreffenden Streptococcus deutlich agglutinierende Eigenschaften aufweist.

10) Der Titer des Serums ist nicht proportional der injizierten Menge und der Zahl der Injektionen.

11) In meinen Versuchen stieg der Agglutinationswert etwa 2 bis 4 Monate lang, blieb dann ungefähr stationär trotz weiterer Injektionen. Nach Sistierung der Injektionen nimmt der Agglutinationswert allmählich ab. 6 Monate nach der letzten Injektion konnten im Blutserum keine Agglutinine mehr nachgewiesen werden.

12) Die Streptokokken werden vom homologen Stamm am stärksten agglutiniert.

13) Bei vergleichenden Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß das homologe Serum den eigenen Stamm am stärksten agglutiniert; die anderen hochvirulenten Stämme wurden auch, allerdings schwächer, beeinflußt. Von den geprüften nicht tierpathogenen Streptokokken waren einige agglutiniert, andere nicht. Von den 2 aus Scharlachfällen gewonnenen Streptokokken wurde der eine (Scharlachabsceß) mit allen Serumarten, der andere (Scharlachblut) nur mit einem Serum agglutiniert. Eine Gesetzmäßigkeit war nicht nachweisbar.

14) Das Serum K, das von einem Kaninchen stammt, welches mit lebenden Kulturen eines für Tiere nicht pathogenen Streptococcus (zusammen mit abgetöteten Proteus-Kulturen) vorbehandelt worden war, agglutinierte den eigenen Stamm bis auf 1:3200, die hoch pathogenen Stämme hingegen nicht.

15) Die stark agglutinierend wirkenden Sera haben auch die Präzipitationsreaktion ergeben, allerdings in viel schwächerem Grade.

16) Im Urin der vorbehandelten Kaninchen konnten keine Agglutinine nachgewiesen werden.

17) Meine Untersuchungen über die hämolytischen und agglutinierenden Eigenschaften der 16 Streptokokken verschiedener Herkunft und verschiedener Virulenz gestatten keine Entscheidung der Frage über Arteinheit bezw. Artvielheit der Streptokokken. Es ließen sich keine scharfen Grenzen zwischen den Eigenschaften einzelner Streptokokkenstämme aufstellen. Die für Kaninchen hoch pathogenen Streptokokken

wirkten auf Blutkörperchen verschiedener Blutarten am stärksten hämolytisch und zeigten mit Kaninchenimmunserum die höchsten Agglutinationswerte. Die für Versuchstiere nicht pathogenen, meist von Krankheitsfällen bei Menschen stammenden Streptokokken verhielten sich verschieden in Bezug auf Hämolyse und auf Agglutination. Dieser Befund spricht für die Bedeutung der Anpassung der pathogenen Mikroorganismen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Privatdozent Dr. Silberschmidt, durch dessen Anregung und unter dessen kundiger Leitung es mir vergönnt war, meine Untersuchungen auszuführen, meinen innigsten Dank aussprechen zu dürfen.

Herrn Dr. Simon danke ich ebenfalls für die liebenswürdige Erlaubnis, seine zahlreichen Streptokokkenstämme zu benützen.

Literatur.

1) Aronson, Untersuchungen über Streptokokken- und Antistreptokokkensera. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)
2) Asakawa, Ueber das Wesen der Agglutination und eine neue Methode, die Agglutination schnell zu beobachten (Gefriermethode). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903.)
3) Baumgarten, Mikroskopische Untersuchungen über Hämolyse im heterogenen Serum. (Berl. klin. Wochenschr. 1901.)
4) Ders., Weitere Untersuchungen über Hämolyse im heterogenen Serum. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)
5) Besredka, De l'hémolysine streptococcique. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901.)
6) Ders., Le sérum antistreptococcique et son mode d'action. (Annales de l'Inst. Pasteur. Vol. XVIII. 1904.)
7) Besredka et Dopter, Contribution à l'étude du rôle des streptocoques au cours de la scarlatine. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904.)
8) Bernheim, Immunisation et sérumtherapie. Paris 1897.
9) Bordet, Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)
10) Castellani, Die Agglutination bei gemischter Infektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
11) Eisenberg, Beiträge zur Kenntnis der spezifischen Präzipitationsvorgänge. (Cracovie. 1902.)
12) Ehrlich u. Sachs, Ueber die Einheit der Komplemente des Serums. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)
13) Ehrlich u. Morgenroth, Ueber Hämolysine. (Berl. klin. Wochenschr. 1901.)
14) Grimbert, Les sérums thérapeutiques. (Paris 1899.)
15) Gromakowsky, Immunisation des lapins contre le streptocoque de l'erysipèle et traitement des affections érysipelateux par le sérum du sang d'animal vacciné. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895.)
16) Jaeger, Die spezifische Agglutination der Meningokokken als Hilfsmittel zu ihrer Artbestimmung und zur bakteriologischen Diagnose der epidemischen Genickstarre. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.)
17) Joos, Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
18) Jogischess, Zur Frage über die Agglutination der Streptokokken durch Serum Scharlachkranker. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904).
19) Kayser, Ueber Bakterienhämolysine, im besonderen das Colilysin. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903.)
20) Kolle u. Otto, Die Differenzierung der Staphylokokken mittelst der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. 1902.)
21) Kraus u. Pirquet, Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902.)
22) Kraus u. Sternberg, Ueber Wirkung der Hämolysine im Organismus. (Centralbl. f. Bakt. XXXII. 1902.)

23) Koch u. Petruschky, Beobachtungen über Erysipelimpfung am Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIII. 1896.)

24) v. Lingelsheim, Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektion. 1900.

25) Ders., Streptokokken. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1903.)

26) Landau, Études sur l'hémolyse. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903.)

27) Lubenau, Hämolytische Tätigkeit einzelner pathogenen Schizomyceten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. 1901.)

28) London, Der gegenwärtige Stand der Lehre von den Cytolysinen und die cytolitischen Theorien der Immunität. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902.)

29) Marmorek, Traitement de la scarlatine par le sérum antistreptococcique. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896.)

30) Ders., Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895.)

31) Ders., Das Streptokokkengift. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

32) Ders., Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

33) Michaelis, Ueber Inaktivierungsversuche mit Präzipitinen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902.)

34) Meyer, Zur Einheit der Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

35) Moser u. Pirquet, Zur Agglutination der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903.)

36) Neufeld, Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorien der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)

37) Ders., Ueber Immunität und Agglutination der Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.)

38) Neisser u. Wechsberg, Ueber das Staphylotoxin. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901.)

39) Nicolle, Suite d'expériences relatives au phénomen de l'agglutination de microbes. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904.)

40) Otto, Weitere Beiträge zur Agglutination der Staphylokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1903.)

41) Petruschky, Entscheidungsversuche zur Frage der Spezifizität der Erysipel-Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIII. 1896.)

42) Pröscher, Zur Anstellung der Widalschen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt. 1902.)

43) Piorkowski, Ueber Streptokokkensera. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

44) Raskin, Klinisch-experimentelle Untersuchungen über Sekundärinfektion bei Scharlach. (Centralbl. f. Bakt. Bd. V. 1889.)

45) Riecke, Beiträge zur Frage der Arteinheit der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1904.).

46) Simon, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. 1903—1904.)

47) Schlesinger, Experimentelle Untersuchungen über das Hämolysin der Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.)

48) Stäheli, Zur Biologie des Streptococcus mastitidis contagiosae. (Inaug.-Dissert. Berlin 1904.)

49) Stäubli, Experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Bildung, der Ausscheidung und der Vererbung der Typhusagglutinine. (Inaug.-Dissert. Zürich 1904).

50) Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1903.)

51) Van de Welde, Sur la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent. (Arch. de méd. exper. 1897. Zit. nach Moser u. Pirquet.)

52) Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903.)

53) Widal et Sicard, Étude sur la sérodiagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.)

54) Fischer, Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII.)

Nachdruck verboten.

Die Wirkung des Aethyläthers auf die hämolytischen und bakteriziden Sera.

[Aus dem Hygienischen Institut der k. Universität in Siena
(Direktor: Prof. A. Sclavo).]

Experimentelle Untersuchungen von Dr. **D. Ottolenghi** und Dr. **N. Mori.**

Bei einigen an Hirschkuhblutserum vorgenommenen Untersuchungen bemerkte Prof. Sclavo[1]), daß der Aethyläther, wenn er eine gewisse Zeit lang mit diesem Serum in Kontakt gehalten wird, demselben das hämolysierende Vermögen, das er normalerweise besitzt, zu entziehen vermag.

Es schien uns nun von einigem Interesse, zunächst festzustellen, ob diese Eigenschaft des Aethers sich nur dem Hirschkuhserum oder auch anderen Sera gegenüber entfaltet, und dann den Mechanismus dieser Wirkung zu studieren.

Unsere ersten Versuche nahmen wir in der Weise vor, daß wir einige normalerweise hämolytische Sera in einem gewöhnlichen Schütteltrichter mit einem Uebermaß von ganz reinem, auf Natrium destilliertem Aether schüttelten, das Gemisch einige Stunden stehen ließen, die Sera dann vom Aether abschieden und sie an roten Blutkörperchen, für die sie ursprünglich aktiv waren, prüften. Die Resultate, die wir erhielten, und die in Tabelle I zusammengestellt sind, tun deutlich dar, daß der Aether das hämolytische Vermögen, das die von uns geprüften normalen Sera besitzen, wirklich immer entweder ganz aufhebt oder bedeutend herabmindert[2]). Wenn jedoch einige von diesen Sera durch den Aether leicht inaktiviert werden, wozu gewöhnlich schon ein 2—3-stündiger Kontakt zwischen Aether und Serum genügt, so erheischen andere, und zwar die am stärksten hämolytisch wirkenden, wie das Rinderserum den roten Blutkörperchen des Meerschweinchens und Kaninchens, und das Hundeserum den roten Blutkörperchen des Meerschweinchens und Kaninchens gegenüber, eine viel länger fortgesetzte Behandlung mit Aether. Das schon erwähnte Rinderserum z. B., das in einer Dose von 0,1 ccm die roten Blutkörperchen sowohl des Kaninchen als des Meerschweinchens (bei Verwendung der gewöhnlichen Menge von 1 ccm einer Blutkörperchenaufschwemmung in 5 Proz. einer 0,85-proz. Kochsalzlösung) vollständig hämolysiert, verliert bei der gleichen Dose von 0,1 ccm seine Wirksamkeit nach 6-stündigem Kontakt mit Aether; aber bei größeren Dosen, z. B. einer solchen von 1 ccm, verliert es seine Wirksamkeit

---

[1]) Sclavo, A., Contributo allo studio del potere tossico del siero di sangue. (Rivista d'igiene e sanità pubblica. Anno XII. 1903.)

[2]) Demnach scheinen in manchen Fällen die mit Aether behandelten Sera ihr hämolytisches Vermögen, wenigstens zum großen Teile, zu bewahren. Dies geschieht namentlich, wenn man bedeutende Serumdosen (1 ccm oder mehr) zu den Versuchen verwendet; aber wenn man dann den Aether aus den Sera sorgfältigst vertreibt, erkennt man durch das nunmehrige gänzliche Ausbleiben der hämolytischen Wirkung leicht, daß die vorher erhaltenen Resultate nur davon abhingen, daß im Serum noch eine Menge Aether enthalten war, die für sich allein zur Hervorrufung der Hämolyse hinreichte. Gewöhnlich jedoch, und dies kann man direkt nachweisen, reicht die Aethermenge, die, auch nach mehrstündiger Behandlung, den Sera beigemengt bleibt, besonders wenn man nicht größere Serumdosen als 1 ccm verwendet, zur Hervorrufung der Hämolyse nicht aus, oder sie bewirkt doch nur ganz geringe Spuren einer solchen.

Tabelle I.

Serumart	Behandlung des Serums	Menge des Serums ccm	Blutart	Ausfall der Hämolyse
Kaninchen	—	0,1	Huhn	Spuren
	—	0,25		fast komplett
	—	0,50		komplett
	—	1		komplett
	Aether während 3 Std.	0,1		0
	do.	0,25		0
	do.	0,50		0
	do.	1		0
Kaninchen	—	0,1	Taube	minimale Spuren
	—	0,25		Spuren
	—	0,50		stark
	—	1		fast komplett
	Aether während 3 Std.	0,1		0
	do.	0,25		0
	do.	0,50		0
	do.	1		0
Esel[1]	—	0,1	Kaninchen	minimale Spuren
	—	0,25		mäßig
	—	0,50		stark
	—	1		fast komplett
	Aether während 3 Std.	0,1		0
	do.	0,25		0
	do.	0,50		0
	do.	1		0
Rind	—	0,1	Kaninchen	stark
	—	0,25		fast komplett
	—	0,50		komplett
	—	1		komplett
	Aether während 6 Std.	0,1		minimale Spuren
	do.	0,25		stark
	do.	0,50		fast komplett
	do.	1		komplett
Rind	—	0,1	Meerschweinchen	komplett
	—	0,25		komplett
	—	0,50		komplett
	—	1		komplett
	Aether während 6 Std.	0,1		0
	do.	0,25		minimale Spuren
	do.	0,50		fast komplett
	do.	1		komplett
Hund	—	0,1	Kaninchen	stark
	—	0,25		fast komplett
	—	0,50		komplett
	—	1		komplett
	Aether während 6 Std.	0,1		0
	do.	0,25		0
	do.	0,50		minimale Spuren
	do.	1		Spur
Hund	—	0,1	Meerschweinchen	fast komplett
	—	0,25		komplett
	—	0,50		komplett
	—	1		komplett
	Aether während 6 Std.	0,1		0
	do.	0,25		0
	do.	0,50		0
	do.	1		minimale Spuren

Die zur Verwendung gekommene Blutmenge war 1 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung. Die Blutkörperchen wurden vorher stets mit Kochsalzlösung mehrmals ausgewaschen.

Die Röhrchen wurden mit Kochsalzlösung auf gleiches Volumen (2 ccm) aufgefüllt, 2 Stunden im Thermostaten bei 37°, dann 20 Stunden bei 0° gehalten.

---

[1] Nicht alle Eselsera besitzen ein Hämolysin gegen die Blutkörperchen des Kaninchens. Unter den aktiven bemerkt man auch Unterschiede in der Kraft.

nur, wenn es 24—48 Stunden mit dem Aether in Kontakt geblieben ist[1]). Und bemerkenswert ist die Tatsache, auf die wir weiter unten noch zurückkommen werden, daß nach 24-stündigem Kontakt mit Aether die hämolytische Wirksamkeit den roten Blutkörperchen des Kaninchens gegenüber aufhört, während die hämolytische Wirksamkeit den roten Blutkörperchen des Meerschweinchens gegenüber noch bestehen bleibt, die erst nach 48 Stunden verschwindet.

Bei diesen ersten Versuchen sowohl als bei den in der Folge vorgenommenen, behandelten wir die Sera mit einem starken Uebermaß von Aether. Das Gemisch teilte sich nach dem Schütteln in eine untere, aus klarem Serum bestehende, und eine obere, vom Aether gebildete Schicht, und diese beiden Schichten waren mitunter durch eine dritte trübe Schicht voneinander getrennt, die aus einer Emulsion von Serum und Aether bestand, welche Emulsion erst nach einem ziemlich langen Zeitraum — oft erst nach einigen Tagen — spontan verschwand. Im Serum blieb natürlich eine gewisse Menge Aether aufgelöst zurück, die wir in einigen Fällen in der gleichen Weise bestimmten wie es Sclavo[2]) bei seinen Untersuchungen an Hirschkuhserum getan hatte, indem wir nämlich bestimmte Volumina Serum und Aether in einem Röseschen Apparat schüttelten, den wir dann so lange stehen ließen, als notwendig war, um dem zu untersuchenden Serum durch den Aether das hämolytische Vermögen zu entziehen. Nach der Höhe der über dem Serum gelegenen Aetherschicht ließ sich nun, unter Berücksichtigung der bei solchen Gemischen stattfindenden geringen Kontraktion, leicht sehr annähernd der Prozentsatz des aufgelösten Aethers berechnen. Auf diese Weise konstatierten wir, daß z. B. Hundeserum bei 16° nach 6 Stunden 10,5 Proz. Aether, Rinderserum bei 24° nach 6 Stunden 12 Proz. Aether löst. Auch bemerkten wir, daß mit der Dauer des Kontakts zwischen Serum und Aether auch die im ersten aufgelöste Menge Aether zunimmt; so stieg beim Rinderserum das Volumen aufgelösten Aethers, das nach der ersten Stunde und bei der gewöhnlichen Zimmertemperatur (24—26° C) = 11 Proz. des Serums war, nach 3—6 Stunden auf 12 Proz., nach 12—24 Stunden auf 13 Proz., bei weiterer Steigerung der Kontaktdauer nahm es nur noch sehr schwach zu.

Wir fragten uns nun natürlich, ob es, um einem Serum das hämolytische Vermögen zu entziehen, wirklich notwendig wäre, daß man dasselbe mit einem starken Uebermaß von Aether behandelte, d. h. daß sich in ihm Aether bis zur Sättigung auflöste, oder ob zu dem Zwecke auch geringere Mengen Aether genügten. Zahlreiche Versuche, die wir zur Lösung dieser Frage mit Rinderserum, den roten Blutkörperchen des Meerschweinchens gegenüber, ausführten, taten dar, daß die Aethermenge, die als Minimum erforderlich ist, um bei 6-stündigem Kontakt 0,1 ccm dieses Serums das hämolytische Vermögen zu entziehen, sehr

---

1) Um genauer festzustellen, in welchem Grade der Aether inhibitorisch wirkt, haben wir jedes der von uns studierten Sera, nach der Behandlung mit Aether, bei größeren Dosen als den gewöhnlich verwendeten, nämlich bei Dosen von 2 ccm oder mehr, auf seine hämolytische Wirksamkeit geprüft; nunwohl, nach einer angemessenen Einwirkungsdauer, die ungefähr die in Tabelle I angegebene ist (das Rinderserum ausgenommen, das, wie erwähnt wurde, eine 24—48-stündige Behandlung erheischt), konnte auch bei diesen größeren Dosen die hämolytische Wirksamkeit als vollständig erloschen angesehen werden. Natürlich wurde bei diesen Versuchen der in den Sera zurückgebliebene Aether vorher vertrieben, um das ihm eigene hämolytische Vermögen auszuschließen.

2) S. l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

annähernd gerade durch die Menge dargestellt wird, die sich bei der gleichen Einwirkungsdauer im Serum löst und die ungefähr 12 Proz. Serum gleichkommt.

Nachdem im allgemeinen festgestellt worden war, daß der Zusatz von Aether den hämolytischen Sera diese ihre Wirkung entzieht, mußte erforscht werden, wodurch dies bedingt ist. Die erste Vermutung, die sich aufdrängte, war, daß die Erscheinung von dem in den Sera gelösten Aether abhänge, der bei Vermischung der Sera mit den roten Blutkörperchen diesen letzteren irgend eine Substanz entziehe oder in ihnen eine Substanz verändere, mit welcher die Ambozeptoren sich verbinden oder mit der sie reagieren müssen, um die Hämolyse zu stande kommen zu lassen, oder in irgend einer anderen Weise die roten Blutkörperchen den spezifischen Sera gegenüber unangreifbar mache.

Gegen diese Annahme konnten wir bald einige Tatsachen erheben, die wir hier kurz aufzählen wollen:

1) Versetzt man einen Bruchteil der in 5-proz. Kochsalzlösung gemachten Blutkörperchenaufschwemmung mit einem Prozentsatz Aether gleich demjenigen, der in einem bestimmten, gegen jene roten Blutkörperchen aktiven Serum nach der zur Inaktivierung erforderlichen Zeitspanne aufgelöst bleibt, und bereitet dann rasch das Gemisch: Blutkörperchenaufschwemmung mit Aether + Serum, sowie vergleichshalber das Gemisch: Blutkörperchenaufschwemmung ohne Aether + Serum — in beiden Fällen Blutkörperchen und Serum von der gleichen Qualität und in der gleichen Quantität verwendend — und bringt diese verschiedenartigen Gemische mittelst Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen, so erfolgt in beiden Hämolyse von dem gleichen Grade.

2) Versetzt man die Sera mit so vielem Aether als hinreicht, um ihnen das hämolytische Vermögen zu entziehen, und bringt sie dann gleich mit den roten Blutkörperchen in Kontakt, so bemerkt man, daß die Sera aktiv geblieben sind; ihre Aktivität erlischt aber, wenn man den Aether eine gewisse Zeitlang auf sie einwirken läßt.

3) Wenn man durch Verdampfung bei nicht höherer Temperatur als 40°, 45° C[1]), oder mittelst des durch eine gute Wasserpumpe erzeugten Vakuums den Aether bis auf die letzten Spuren aus den Sera vertreibt, so daß man auch beim Schütteln keinen Aethergeruch mehr wahrnimmt, bleiben die Sera ebenso inaktiv wie sie es vor dieser Operation waren. Da sich jedoch vermuten ließ, daß bei diesem Verfahren noch einige, durch den Geruch nicht mehr wahrnehmbare Spuren Aether in den Sera zurückgeblieben sein könnten und die Hämolyse zu stören

---

1) In den Fällen, in denen wir die Verdampfung durch Hitze vornahmen, stellten wir neben das Behältnis, in welchem sich das mit Aether behandelte Serum befand, stets ein ganz ähnliches, eine gleiche Dose einfachen Serums enthaltendes Behältnis auf das Wasserbad. Sobald das erstgenannte Serum genug erhitzt war, prüften wir das hämolytische Vermögen des letztgenannten, um festzustellen, ob es durch die Erhitzung modifiziert worden wäre. Natürlich tat der Versuch stets dar, daß eine, auch 1—2-stündige Erhitzung bei 40—45° C durchaus unschädlich ist; wir hatten also, zur Vertreibung des Aethers die Verdampfung durch Hitze anwendend, nicht zu fürchten, daß sich dadurch Fehlerquellen in unsere Versuche einschlichen. Uebrigens sei bemerkt, daß wir bei fast allen Versuchen, zur größeren Sicherheit, gleichzeitig Bruchteile von mit Aether behandelten Sera verwendeten, denen der Aether mittelst der Pumpe, auf kaltem Wege, entzogen worden war, und Bruchteile, bei denen wir den Aether durch Erhitzung verdampft hatten, und daß die Resultate stets vollkommen übereinstimmten.

vermochten, setzten wir in einen Exsikkator, der Schwefelsäure und eine große Anzahl mit Paraffin durchtränkter Papierstreifen enthielt, neben eine gegebene Menge eines mit Aether behandelten Serums, die gleiche Menge einfachen Serums. Der Exsikkator wurde im Thermostaten bei 37 ° gehalten, bis die Sera vollständig eingetrocknet waren (48 Stunden); hierauf brachten wir die Sera durch Zusatz von destilliertem Wasser auf gleiches Volumen und prüften sie zum Vergleich von neuem auf ihr hämolytisches Vermögen. Nunwohl, nach diesem Verfahren, durch welches der Aether offenbar vollständig vertrieben sein mußte, war das mit Aether behandelte Serum ebenso inaktiv wie eine andere Serumprobe, die wir während dieser Zeit außerhalb des Exsikkator, im Dunklen, gehalten hatten, während das einfache Serum ganz deutlich hämolytisch geblieben war, wenn sich auch diese Kraft in etwas geringerem Grade äußerte als ursprünglich.

Die bisher erwähnten Tatsachen scheinen also einstimmig darzutun, daß das Aufhören des hämolytischen Vermögens in den mit Aether geschüttelten Sera nicht einfach dem Vorhandensein von Aether in den Sera, als einer die Hämolyse störenden Substanz, und auch nicht einer Veränderung der roten Blutkörperchen zuzuschreiben ist, sondern einer direkten Einwirkung des Aethers auf die Sera, die zu ihrer Entfaltung einer bestimmten Zeitspanne und auch einer gewissen Reagenzmenge bedarf.

Es war deshalb von Interesse, zu erforschen, ob der Aether den Sera irgend eine zum Zustandekommen der Hämolyse notwendige Substanz zu entziehen vermöge. Unsere diesbezüglichen Versuche nahmen wir an Rinder- und Hundeserum vor, weil sich von diesen Tieren leicht ansehnliche Mengen Serum erhalten ließen. Diese Sera nun mit starkem Uebermaß von Aether schüttelnd und dann den in klarer Schicht sich absondernden Aether mittelst der Pumpe im Vakuum eindunstend, erhielten wir nur eine weiße (Hund) oder gelbgefärbte (Rind), in absolutem Alkohol, in Aether, Chloroform leicht gänzlich sich lösende, in Wasser oder Kochsalzlösung, in verdünnten Alkalien und Säuren unlösliche Substanz, die Kohlenstoff, aber weder Stickstoff noch Phosphor, noch Schwefel enthält, die die Akroleïnreaktion und die Salkowskische Cholestearinreaktion gibt, die sich leicht verseifen läßt und unter dem Mikroskop als aus ganz feinen ölartigen, mit wenigen Cholestearinkrystallen vermischten Tröpfchen bestehend erscheint.

Die spärliche Menge, die sich von dieser Substanz, selbst aus bedeutenden Serumdosen erhalten läßt, gestattete keine genauere Untersuchung; aber die gesammelten Daten lassen es für sehr wahrscheinlich halten, daß sie, außer aus Spuren von Cholestearin, wesentlich aus Fett besteht und beim Rinde vielleicht auch eine gewisse Menge eines Lipochroms enthält, denn in Aether gelöst, zeigt sie im Spektroskop zwei Absorptionsstreifen in F und zwischen F und G.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine infektiöse Pneumonie der Kaninchen und deren Bekämpfung mit Antiserum.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten, Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. Tavel).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **H. J. Südmersen.**

Da Kaninchen und Meerschweinchen besonders häufig als Versuchstiere in der Bakteriologie gebraucht werden, so ist die Kenntnis der Epidemieen von großem Wert, denen diese Tiere bisweilen unterworfen sind. Aus der Erkenntnis der Ursache ergeben sich dann manchmal brauchbare Mittel, diese Krankheiten zu bekämpfen. Bis jetzt sind nur wenige Forschungen auf diesem Gebiet gemacht worden. In der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten (1882) liegt eine Arbeit vor von Beck und im gleichen Journal (1897) eine solche von Kraus über eine infektiöse Pneumonie bei Kaninchen. Später erschien eine Arbeit in russischer Sprache von Tartakowsky, von welcher mir ein Referat im Centralblatt für Bakteriologie (1899) zur Verfügung stand, über eine ähnliche Pneumonie bei Meerschweinchen. Schließlich hat Schwer über denselben Gegenstand eine Publikation im Centralblatt für Bakteriologie (1902) veröffentlicht.

Es ist von Interesse zu bemerken, daß der Bacillus, den Tartakowsky aus den Lungen erkrankter Meerschweinchen isolierte, wenn nicht identisch, so doch demjenigen sehr ähnlich ist, den Kraus in den Lungen erkrankter Kaninchen fand. Dagegen sind diese beiden sicher verschieden von dem Bacillus, den Beck in den Lungen von Kaninchen nachwies, die von einer ähnlichen Epidemie befallen waren.

Seit 1$^1/_2$ Jahren bin ich mit dem Studium pneumonischer Erkrankungen bei Kaninchen beschäftigt. Die Versuche sind im Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten, Bern, gemacht worden. Es zeigte sich, daß die meisten Pneumonieepidemien, welche ich beobachten konnte, durch einen Bacillus verursacht sind, der mit dem schon von Kraus und Tartakowsky beschriebenen in den Haupteigenschaften übereinstimmt. Der Bacillus von Schwer gehört übrigens auch zu derselben Gruppe. Den gleichen Bacillus fand ich in den Lungen von Meerschweinchen wie von Kaninchen, die an einer epidemisch auftretenden Pneumonie zu Grunde gingen. Der Bacillus hat folgende Eigenschaften: Er ist ein sehr kurzes und dünnes Stäbchen, oft zu zweien gelagert; nach Gram entfärbbar; er ist beweglich. Auf Agar und Gelatine erzeugt er einen dicken, schleimigen, matt-grauen Belag; Gelatine wird nicht verflüssigt; Milch nicht koaguliert; in Zuckerbouillon wird kein Gas entwickelt und in Peptonbouillon kein Indol gebildet. Auf Kartoffelnährböden ist ein rötlich-gelb-wachsartiges Wachstum charakteristisch. Er gehört also zu der Coli-Gruppe. In einer Temperatur von 60° C wird er nach 10 Minuten getötet. In der Bouillonkultur entwickelt sich ein Toxin, welches bei intravenöser Injektion eine starke Wirkung auf Kaninchen ausübt. Im Gegensatz zu dem gewöhnlichen Darmcolitoxin bleibt es ohne Wirkung, wenn es einem Frosche injiziert wird.

Kulturen, welche durch 20 Minuten langes Erhitzen auf 60—62° C abgetötet wurden, hatten bei intraperitonealer Injektion auf Kaninchen eine vaccinierende Wirkung. Nach wiederholten Injektionen zeigt das Blut vom Kaninchen ausgesprochene agglutinierende und bakterizide Eigenschaften und besitzt die Fähigkeit, erkrankte Tiere zu schützen.

Diese Versuche und Resultate sollen in einer späteren Arbeit ausführlich besprochen werden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Unterscheidung von Fermenten mit Hilfe von Serumreaktionen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut in Wien
(Vorstand: Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. **Karl Landsteiner.**

In diesen Zeilen wird kurz über einige die Artspezifizität von Verdauungsfermenten betreffende Erfahrungen berichtet[1]).

Als durch eine Reihe von Untersuchungen über Immunisierungsprozesse die Kenntnis erworben war, daß viele sehr nahe verwandte Substanzen, die verschiedenen Pflanzen- oder Tierarten entstammen, zwar nicht durch die üblichen chemischen Reaktionen, wohl aber durch Serumreaktionen zu differenzieren sind, habe ich auf die Möglichkeit hingewiesen, auch die scheinbar gleichartigen Fermente verschiedener Tierspecies auf diese Weise zu unterscheiden[2]). Es war mir damals nicht gelungen, wie ich wünschte, spezifische Antifermente zu erzeugen, doch ließen Versuche über die hemmende Wirkung verschiedener Normalsera auf die Trypsine einiger Säugetierarten wegen der dabei beobachteten Differenzen der Hemmungswirkung mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit den Schluß ziehen, daß die untersuchten Trypsine verschieden seien.

Alsbald wurde von mehreren Autoren die Herstellung von antifermentativem Serum mit gesteigerter Wirkung erzielt, und solche durch Fermentinjektionen modifizierte Sera ließen sich zur Differenzierung der Fermente benützen. Allerdings wurde dieser Erfolg nicht leicht erreicht und die Antifermente hatten im Vergleich zum normalen Serum bei weitem nicht jene hohe Wirksamkeit, die sich bei vielen anderen Immunisierungsvorgängen einstellt.

Auf diese Weise unterschied Morgenroth[3]) Cynarase und tierisches Lab. Auch in diesem Falle konnte das Verhalten normaler Sera gegenüber den beiden Fermenten mit Wahrscheinlichkeit für die Annahme ihrer ungleichen Beschaffenheit verwertet werden. Bordet und

---

[1]) Eine genauere Mitteilung beabsichtigt Dr. M. v. Eisler, der die Versuche ausführte, in den Sitzungsber. der kais. Akad. der Wissensch. in Wien zu geben. Dort soll auch die Fällbarkeit der Antifermente des Serums durch Ammonsulfat besprochen werden.

[2]) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. p. 357. Ein ähnlicher Versuch war durch v. Dungern für Bakterienfermente schon gemacht worden. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1898. p. 1040.)

[3]) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. p. 721.

Gengou[1]) fanden so Unterschiede zwischen den Fibrinfermenten verschiedener Tiere auf und zu ähnlichen Folgerungen kamen Muraschew[2]) und Loeb[3]) mit Hilfe der Untersuchung normaler gerinnungsbeschleunigender Stoffe. Moro[4]) konnte jüngst das Serum mit Rinderlab behandelter Kaninchen zur Unterscheidung von menschlichem und tierischem Lab benützen.

Unsere eigenen Versuche wurden an Pepsin, Trypsin und Lab angestellt und zwar nach dem Vorschlage von Sachs[5]) mit Verwendung des Serums von Gänsen, denen käufliche Präparate dieser Fermente durch längere Zeit in großen Mengen injiziert worden waren. Zur Injektion wurde Pepsin (und Lab) vom Schwein, Trypsin vom Rind genommen und die Sera wurden, wenn sich eine namhafte Steigerung der antifermentativen Wirkung im Vergleich zu normalem Serum erkennen ließ gegenüber Pepsin vom Schwein und Hund, Lab vom Schwein, Rind und Huhn und Trypsin vom Menschen, Schwein, Rind und Huhn geprüft. Bei diesen Versuchen ergab es sich, daß eine Steigerung der Hemmungswirkung in irgendwie erheblichem Maße nur in Bezug auf die zur Injektion verwendete Fermentart eingetreten war.

Als Beispiele für eine größere Anzahl von Versuchen, die mit variierten Mengen der Stoffe angestellt wurden, sollen hier die folgenden zwei dienen.

Es wurden in mehreren Röhrchen zu je 1 ccm 10-proz. verflüssigter Gelatine 10 Tropfen (= 0,25 ccm) Trypsinlösung von Rind, Schwein, Huhn und Mensch, die mit Gelatine auf annähernd gleiche tryptische Wirkung eingestellt waren, hinzugefügt. In andere Röhrchen kamen dieselben Mischungen aber mit Zusätzen von 1 Tropfen eines normalen Gansserums einerseits (NS.), des Serums einer mit Rindertrypsin vorbehandelten Gans (IS.) andererseits.

Die Röhrchen wurden nach dem Mischen des Inhaltes 2 Stunden bei 38° C gehalten, dann zur Erstarrung in kaltes Wasser gebracht. Nun wurde durch langsames in bestimmter Weise vorgenommenes gemeinsames Erwärmen der Röhrchen im Wasserbad die Verflüssigungstemperatur der Gelatine bestimmt.

Es wurde gefunden:

				Verflüssigungstemperatur
10-proz.	Gelatine	ohne Zusatz		29—30°
10	„ „	+ Rindertrypsin		11—12°
10	„ „	+ „	+ NS.	22—23°
10	„ „	+ „	+ IS.	26—27°
10	„ „	+ Schweinetrypsin		8—9°
10	„ „	+ „	+ NS.	21°
10	„ „	+ „	+ IS.	20°
10	„ „	+ Hühnertrypsin		8—9°
10	„ „	+ „	+ NS.	20°
10	„ „	+ „	+ IS.	18—19°
10	„ „	+ Menschentrypsin		8°
10	„ „	+ „	+ NS.	20—21°
10	„ „	+ „	+ IS.	20°

In ähnlicher Weise wurde 1 ccm 10-proz. Gelatine mit 0,5 ccm 1-proz. HCl versetzt, ferner mit 0,1 ccm von Lösungen von Schweine-

---

1) Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XV. p. 129.

2) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXX.

3) Hofmeisters Beitr. Bd. V. p. 534. Virchows Arch. Bd. CLXXVI.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. p. 485.

5) Fortschr. der Med. Bd. XX. 1902. p. 425.

und Hundepepsin und in anderen Röhrchen noch mit 0,1 und 0,2 ccm normalem Gansserum (NS.) oder ebensoviel Serum einer mit Pepsin des Schweines behandelten Gans (IS.).

Ergebnis:

		Verflüssigungstemperatur
10-proz. Gelatine nur mit HCl versetzt		27—28°
10 „ „ + Schweinepepsin		22°
10 „ „ + „	+ 0,1 NS.	23°
10 „ „ + „	+ 0,1 IS.	24—25°
10 „ „ + „	+ 0,2 NS.	23—24°
10 „ „ + „	+ 0,2 IS.	27—28°
10 „ „ + Hundepepsin		22—23°
10 „ „ + „	+ 0,1 NS.	24°
10 „ „ + „	+ 0,1 IS.	24°
10 „ „ + „	+ 0,2 NS.	24—25°
10 „ „ + „	0,2 IS.	24—25°

(In den Versuchen wurde in den Kontrollröhrchen ohne Ferment- bezw. Serumzusatz das Volumen mit dem der übrigen durch Zufügen von Kochsalzlösung gleich gemacht.)

Die Versuche deuten demnach auf eine verschiedene Beschaffenheit des Trypsins, Pepsins und Labs der verschiedenen Tierarten. Allerdings ist sowohl hier als bei allen anderen vorliegenden ähnlichen Ergebnissen nicht zu übersehen, daß die verwendeten Fermentlösungen außer den wirksamen Substanzen noch viele andere enthalten und demgemäß die Resultate nicht absolut eindeutig sind, wenn auch die daraus abgeleitete Folgerung wahrscheinlich ist.

In einer Reihe von Versuchen wurde ferner die Wirkung der normalen Sera mehrerer Tierspecies gegenüber verschiedenen Trypsinen ganz entsprechend der von mir schon einmal benutzten Versuchsanordnung geprüft.

Die gleiche Anordnung hat später Glaessner[1]) verwendet.

Glaessner gibt auf Grund seiner Experimente an, daß das Serum einer Tierart beträchtlich stärker auf deren Trypsin als auf das anderer Arten hemmend wirke.

Bei unseren Versuchen verglichen wir die normalen Sera und Trypsine immer von je zwei Tierspecies in ihrer wechselseitigen Einwirkung und fanden einige Male, aber durchaus nicht immer, das von G. angegebene Verhältnis. Wir fanden auch Fälle, wo Trypsin durch artfremde Sera stärker beeinflußt wurde, als durch das zugehörige Serum.

Unsere Versuche unterscheiden sich nun insofern von denen von G., als wir nicht koaguliertes Eiweiß, sondern Gelatine verdauen ließen, und dadurch eine Differenz des Ergebnisses bedingt sein könnte, andererseits aber würden die wenigen von G. mitgeteilten Versuchsdaten keineswegs für die Aufstellung einer so allgemeinen Schlußfolgerung genügen.

Auch die hier erhaltenen Resultate über die trypsinhemmende Wirkung der normalen Sera sprechen konform mit meinen früheren wieder für das Bestehen von Unterschieden zwischen den nahe verwandten Fermenten der verschiedenen Tierarten. Es hemmte z. B. normales Gansserum stärker das Trypsin des Huhnes als das des Rindes, normales Rinderserum stärker das Rinder- als das Hühnertrypsin.

---

1) Hofmeisters Beitr. Bd. IV. p. 79.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Heidelberg.
(Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. Knauff.)]

Von Dr. **F. Marschall,** Privatdozent an der Universität.

In jüngster Zeit sind in dieser Zeitschrift[1]) zwei Arbeiten erschienen, welche sich — und zwar die eine ausschließlich — mit der Brauchbarkeit der von Endo[2]) vor etwa Jahresfrist zur Differenzierung von Typhus und Coli angegebenen Verfahren beschäftigen. Verff. gelangen dabei zu einem wesentlich voneinander abweichenden Urteil. Während Petkowitsch auf Grund zahlreicher und verschiedener Versuche den Endoschen Nährboden als einen recht brauchbaren bezeichnet, spricht Ruata demselben in Anbetracht seiner Herstellung bezw. Zusammensetzung und der Ungewißheit des Farbenumschlages nur einen sehr bedingten Wert zu.

Da bei der Wichtigkeit, welche die Frage einer möglichst schnellen und sicheren Typhusdiagnose besitzt, jedes eine Erleichterung in dieser Hinsicht bietende Verfahren, sofern es wirklich diesem Postulat entspricht, als eine wertvolle Bereicherung unseres bakteriologischen diagnostischen Hilfsmaterials zu begrüßen ist, glaube ich Veranlassung nehmen zu sollen, zur weiteren Klärung der in Rede stehenden Frage die von mir mit dem Endoschen Nährboden gemachten Erfahrungen an dieser Stelle in knapper Form wiederzugeben.

Ehe ich auf die Einzelheiten eingehe, möchte ich, wie das ja auch Petkowitsch betont, vorweg bemerken, daß dieser Nährboden selbstverständlich ebensowenig wie alle anderen, aus ähnlichen Erwägungen hervorgegangenen, für sich allein im stande ist, ohne weiteres die bakteriologische Diagnose eines echten Typhus zu gewährleisten.

I. Herstellung. Dieselbe ist einfach und wenig zeitraubend, besitzt somit vor dem sonst vielfach gebrauchten und gewiß nicht zu unterschätzenden Drigalski-Conradi-Nährboden einen großen Vorzug. Daß die Bereitung des letzteren recht viel Zeit und Sorgfalt erfordert, namentlich die zu demselben erforderliche Herstellung der Lackmustinktur nach Kubel-Tiemann, da die käufliche Lackmustinktur für die feinen Farbenumschläge völlig unzulänglich ist, wird jeder bestätigen, der denselben anzufertigen genötigt ist.

Indem ich bezüglich der Einzelheiten der Herstellung des Endoschen Nährbodens auf die eben zitierte Originalarbeit verweise, möchte ich, in Uebereinstimmung mit Petkowitsch, bemerken, daß der genau nach der Vorschrift hergestellte Nährboden so gut wie farblos ist. Unerläßlich hierfür aber ist die Verwendung einer jedesmal frisch bereiteten Lösung von gänzlich unverwitterten Natriumsulfitkristallen.

---

1) Petkowitsch, Drag. S., Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 304. — Ruata, Guido Q., Das Verfahren von Endo zur Differenzierung des Bacillus von Eberth vom Colibacillus. (Ibid. p. 576.)

2) Endo, S., Ueber ein Verfahren zum Nachweis des Typhusbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 109.)

Daß eine Rotfärbung dieses durch Natriumsulfit zur Farblosigkeit reduzierten Fuchsin-Milchsäure-Nährbodens außer durch säurebildende Bakterien auch durch den Sauerstoff der Luft, namentlich bei gleichzeitiger Einwirkung erhöhter Temperatur — also beim Verweilen im Thermostaten — eintreten kann und da in der Tat auch gelegentlich in mäßiger Weise eintritt, ist bei der leichten Zersetzlichkeit des Natriumsulfits erklärlich. Indem nun Ruata diesen vermeintlichen Uebelstand — daß derselbe wirklich ein vermeintlicher ist, soll weiter unten dargelegt werden — durch eine weit über die von Endo gegebene Vorschrift hinausgehende Vermehrung des Natriumsulfits zu beheben versucht, ohne indessen nach seinen eigenen Angaben ein wesentlich besseres Resultat zu erzielen, schafft er einen viel größeren Uebelstand, er beeinträchtigt dadurch die Farbenempfindlichkeit des Endoschen Nährbodens in der bedenklichsten Weise. Derselbe vermag, ganz analog dem Drigalski-Conradischen Lackmusnährboden, die feinen Farbenumschläge mit Sicherheit nur zu gewährleisten, wenn die hierbei ausschlaggebende Substanz sozusagen sich im labilen Gleichgewicht befindet. Es ist daher leicht erklärlich, daß das B. coli, welches das in eine Leukobase übergeführte Rosanilin durch seine Säureproduktion wieder in rotes Fuchsin umwandeln soll, diese Aufgabe nicht erfüllen kann, wenn ein gewaltiger Ueberschuß von reduzierendem Natriumsulfit in dem Nährboden seine Arbeit im Keime erstickt. Vornehmlich auf diesen Umstand ist meines Erachtens das ungünstige Ergebnis der von Ruata mit dem Endoschen Nährboden angestellten Versuche und sein demzufolge abfälliges Urteil über den letzteren zurückzuführen. Dazu kommt, als weiteres zu dem unbefriedigenden Resultate beitragendes Moment, daß Ruata gleichzeitig wiederholt den Fuchsinzusatz reduzierte, sowie schließlich die Art der Beschickung des Nährbodens mittels paralleler Striche. Dieselbe muß, um gute Erfolge zu verbürgen, d. h. eine genügende Isolierung der Kolonieen zu erreichen, nach der von Drigalski-Conradi zuerst in Vorschlag gebrachten Methode mittels |¯-Glasstäben geschehen, wie dies auch von Endo selbst angegeben ist.

II. Haltbarkeit. Im Dunkeln und kühl aufbewahrt, hält sich der Endo-Boden unverändert etwa 2 Wochen. Später nimmt er auch unter diesen Kautelen in den oberflächlichen Schichten infolge Luftoxydation eine rötliche Färbung an. Im Hinblick auf die Gefahr einer Zersetzung des Milchzuckers durch längeres Kochen empfiehlt es sich, analog wie beim Drigalski-Conradi-Lackmusnährboden, den Endoschen in kleineren Portionen abgeteilt vorrätig zu halten, wie sie der jedesmaligen Anlage einer Plattenserie entsprechen.

III. Aussaat des zu untersuchenden Materials. Es ist unbedingt nötig, dieselbe so zu bewerkstelligen, daß möglichst sämtliche Kolonieen isoliert zur Entwickelung kommen. Dies kann, wie schon erwähnt, in befriedigender Weise nur erreicht werden durch die peinlichste Befolgung der von Drigalski-Conradi angegebenen Vorschriften, bezüglich deren Einzelheiten ich demnach auf die Originalarbeit dieser Autoren[1]) verweise.

Nun wissen wir in der Regel nichts über die Keimzahl eines zu untersuchenden typhusverdächtigen Materials und stehen somit einem unbekannten Faktor gegenüber. In diesem Punkte befinden wir uns also bezüglich der zu bewerkstelligenden Aussaat in einem gewissen Dilemma und zwar gilt dies in erhöhtem Maße bei der Benutzung des Endoschen Bodens, welcher ein wesentlich leichteres und weiteres Diffundieren der durch B. coli-Kolonieen erzeugten Verfärbung als der Drigalski-Conradi-Boden ermöglicht. Gehen wir beispielsweise bei der Verarbeitung eines Typhusstuhles, um ja isolierte Kolonieen zu erhalten, mit der Verdünnung desselben zu weit, so kann es sich ereignen, daß bei einem an Typhuskeimen armen Stuhl überhaupt keine Typhuskeime ausgesät werden und somit die in ersterem tatsächlich vorhandenen Typhusbacillen der Untersuchung entgehen. Treiben wir andererseits, in Befürchtung eben dieses Umstandes, die Verdünnung nicht weit genug, so erleben wir es wohl, daß die Platten von B. coli überwuchert werden und die vielleicht nur äußerst spärlich vorhandenen zarten Typhuskolonieen durch die von den ersteren ausstrahlende intensive Rötung gewissermaßen zugedeckt werden.

---

[1]) v. Drigalski-Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 283 ff.)

Dieser Gefahr läßt sich dadurch begegnen, daß man eben eine größere Anzahl Platten anlegt. Analog dem Verfahren von Drigalski-Conradi stellt man sich 2 Verdünnungen her, und zwar etwas weitergehend, als es von diesen Autoren für ihren Nährboden empfohlen wird, eine im Verhältnis 1 : 50 und eine zweite 1 : 100. Hiermit beschickt man 2 Serien von etwa 4—5 großen Schalen. Der geringe Mehraufwand an ¦Zeit und Mühe fällt hierbei nicht ins Gewicht, und die Scheu vor einem allzu reichlichen Verbrauch des ohnedies billigen und relativ leicht herzustellenden Nährbodens wäre eine falsch angebrachte Sparsamkeit.

Die erste Platte ist, wie dies auch Drigalski-Conradi angeben, mit verschwindenden Ausnahmen übersät und für die Untersuchung nicht zu gebrauchen; man verwendet daher für dieselbe zweckmäßig eine kleine, gewöhnliche Petri-Schale.

IV. Zeitdauer, innerhalb welcher zuverlässige Resultate erreichbar sind. Manchmal gelingt es schon, wie es Endo angibt, nach 15 Stunden bei 37° verdächtige Kolonieen zu erkennen. Es kommt aber nicht so selten vor, daß Kolonieen, welche um diesen Zeitpunkt als Typhus oder Paratyphus angesprochen werden könnten, innerhalb weniger Stunden bei weiterem Aufenthalte im Thermostaten doch, von einem oft winzigen roten Punkte im Zentrum beginnend, tiefrot werden und somit für die Diagnose auszuschalten sind. Es empfiehlt sich daher, die Prüfung der verdächtigen Kolonieen und deren Abimpfung nicht vor der 20. Stunde, am besten etwa nach 22 Stunden Aufenthalt im Thermostaten vorzunehmen, um vor Enttäuschungen sicher zu sein und unnütze Materialverschwendung sowie überflüssige Mühe zu vermeiden.

Vor diesem Zeitpunkt ist auch auf Drigalski-Conradi-Boden im allgemeinen eine sichere Abschätzung der in Frage kommenden Kolonieen nicht möglich, somit steht der Endosche Nährboden hinter demselben in dieser Hinsicht keineswegs zurück.

V. Wachstum und Aussehen der verschiedenen Kolonieen. Die an dieser Stelle niedergelegten Beobachtungen sind in erster Linie die Resultate einer Reihe von Versuchen mit

a) Reinkulturen und deren Mischungen;
b) künstlichem Typhusstuhl;

sodann von

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

c) Untersuchungen eingesandter typhusverdächtiger Stühle; wobei ich bemerke, daß dieselben gleichzeitig auf auf Drigalski-Conradi-Boden angestellt wurden.

Was die sub a) angeführten Versuche anlangt, so wurden bezüglich ihres Verhaltens auf Endo-Boden folgende Arten geprüft:

1) B. coli commune, aus normalem menschlichen Stuhl gezüchtet.

2) Typhus No. 3, Institutssammlung.

3) Typhus No. 5, ebenfalls.

4) Typhus W, aus der Milz eines an Typhus Verstorbenen gezüchtet.

5) Typhus K, aus dem Stuhl eines typhuskranken Kindes gezüchtet.

6) B. typhoïdes liquefaciens. Dieser Bacillus wurde aus einem verdächtigen Brunnenwasser in H. gezüchtet, gleicht in seinem morphologischen sowie biologischen Verhalten im allgemeinen durchaus dem echten B. typhi, unterscheidet sich jedoch von demselben durch eine geringere Beweglichkeit und die Neigung, gelegentlich — aber nicht regelmäßig — die Gelatine äußerst langsam zu verflüssigen. Ich glaube daher, daß er identisch ist mit dem von Petruschky und Pusch[1]) in mehreren Wässern gesehenen und zuerst unter diesem Namen beschriebenen Bacillus.

7) Paratyphus „A“ Freiburg.

8) Paratyphus „B“ Freiburg.

Beide aus dem hygienischen Institute der Universität Freiburg.

9) Paratyphus „A“ München.

10) Paratyphus „B“ München.

Beide durch Vermittelung der hiesigen medizinischen Klinik.

11) Paratyphus „A“ Berlin.

12) Paratyphus „B“ Berlin.

Beide aus dem kgl. Institute für Infektionskrankheiten in Berlin.

13) B. enteritidis Gärtner.

Aus dem hygienischen Institute der Universität Jena.

Die vorstehenden Arten wurden wiederholt in Reinkulturen auf Endo-Boden ausgesät und, wie schon oben erwähnt, zum Zwecke der Kontrolle auch eine Aussaat auf Drigalski-Conradi-Boden bewerkstelligt, auf welchem dieselben — abgesehen von B. coli natürlich — ausnahmslos blau wuchsen.

Ausgangsmaterial waren durchwegs 24 Stunden bei 37° gehaltene Bouillonkulturen in entsprechender Verdünnung[2]).

In gleicher Weise wurden Mischungen von B. coli mit Typhus, Paratyphus sowie B. enteritidis zur Aussaat gebracht.

Nach 20—22 Stunden bei 37° war das Bild dann folgendes:

Der Nährboden war, mit Ausnahme einer einige wenige Male aufgetretenen mäßigen Rötung, nahezu oder ganz farblos.

Auf demselben präsentieren sich die Kolonieen der einzelnen Arten in nachstehend beschriebener Weise.

---

[1]) Petruschky u. Pusch, Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung von Wässern. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 306.)

[2]) Für Zwecke des Kolonieenstudiums bezw. der Demonstration kommt man mit 3 Endo-Platten aus, wenn man zur Beschickung derselben von einer Verdünnung ausgeht, welche auf 5 ccm Aq. steril. 1 Oese der entsprechenden Bouillonreinkulturen enthält. Man erhält dann auf der letzten Platte nur noch ganz wenige, gänzlich isolierte Kolonieen.

1) B. coli. Tiefrote, nahezu runde und am Rande deutlich erhabene, ziemlich große Kolonieen. Intensive Rötung des Nährbodens rings um dieselben, welche von Stunde zu Stunde zunimmt und sich weiter ausbreitet. Gegen die 24. Stunde, öfters auch schon früher, schillert die Oberfläche der Kolonieen in dem grünen Metallglanze, wie ihn die Fuchsinkristalle besitzen.

2) B. typhi. Alle 4 Stämme wachsen nahezu gleich als farblose bezw. blasse, mäßig große, kreisrunde Kolonieen, welche von der Mitte aus deutlich gegen die dünneren Ränder abfallen. Glatte Oberfläche, keine Nabelbildung.

Falls der Nährboden rötlich gefärbt ist, sind die Typhuskolonieen von einem lichten, farblosen Hofe umgeben.

3) B. typhoïdes liquefaciens. Ziemlich kleine, farblose, kreisrunde Kolonieen, im übrigen Verhalten durchaus den echten Typhuskolonieen gleichend.

4) B. paratyphi Typ. „A“. Die 3 Stämme verhalten sich untereinander völlig übereinstimmend. Die Kolonieen gleichen durchaus denen des echten Typhus, nur sind sie nicht ganz so blaß wie diese.

5) B. paratyphi Typ. „B“. Die 3 Stämme „Berlin“, „Freiburg“ und „München“ wachsen übereinstimmend farblos, verhalten sich indessen nicht gleich bezüglich der Form sowie Größe ihrer Kolonieen und zwar wächst:

Paratyphus „B“ Berlin in runden Kolonieen mit glatter Oberfläche, die denen des echten Typhus sehr ähnlich aber größer sind und entschieden üppiger entwickelt.

Paratyphus „B“ München gleichfalls in runden, typhusähnlichen Kolonieen, aber kleiner als die eben beschriebenen.

Paratyphus „B“ Freiburg in flachen, nicht glattrandigen, sondern mit gelappten Rändern versehenen Kolonieen, welche größer als die beiden vorstehend geschilderten sind und überdies eine fein gekörnte Oberfläche besitzen. Keine Nabelbildung.

Falls der Nährboden rötlich verfärbt ist, sind die Kolonieen aller 3 Stämme, und zwar des zuletzt erwähnten in exquisitem Maße, von einem farblosen Hofe umgeben.

6) B. enteritidis Gärtner. Große, farblose Kolonieen wie Paratyphus „B“ Freiburg, aber nicht ganz so flach wie diese. Ebenfalls in verfärbtem Nährboden von einer lichten Zone umgeben und hier außerdem eine deutliche Andeutung eines Nabels.

Kurz zusammengefaßt wachsen also auf Endo-Nährböden:

Rot: B. coli.

Blaß bis farblos: Echter Typhus, Typhoïdes liquef., Paratyphus Typ. „A“ und „B“, B. enteritidis Gärtner.

Erhöht man den Natriumsulfitzusatz über die von Endo angegebene Menge und setzt beispielsweise statt der vorgeschriebenen 25 ccm 10-proz. Natriumsulfitlösung 33 ccm hinzu, so erhält man unter allen Umständen einen auch bei noch so langem Verweilen im Thermostaten absolut farblos bleibenden Nährboden. Allerdings wird dann die soeben beschriebene Differenz in der Gestaltung der Kolonieen wesentlich beeinflußt. Es wächst nun z. B. der B. enteritidis Gärtner glattrandig und ohne Nabelbildung, ebenso B. paratyphi „B“ Freiburg nahezu rundlich, während die Kolonieen des B. coli die von Endo als charakteristisch hervorgehobene Aufwulstung der Ränder zunächst nicht zeigen, an Größe erheblich zurückbleiben und das Auftreten des Metallglanzes in reflektiertem Lichte verzögert wird. Der Farbenunterschied, also die Hauptsache, bleibt indessen bestehen und zwar in noch eklatanterem Maße. B. coli wächst in tief dunkelroten kleinen Kolonieen mit rot ausstrahlendem Hofe auf dem völlig farblosen Nährboden, alle anderen genannten Arten als zarte, gänzlich farblose, runde Kolonieen.

Hiernach erscheint es mir unverständlich, wie Ruata am Schlusse seiner Abhandlung den Beweis dafür erbracht zu haben glaubt, „daß sowohl der Bacillus von Eberth als der Colibacillus mehr oder weniger den Nährboden röten oder daß sie ihn gar nicht röten etc.“ Die Erklärung hierfür vermag ich nur in den schon eingangs erwähnten durch Ruata selbst herbeigeführten Abweichungen bezüglich der Zusammensetzung und der Beschickung des Endoschen Nährbodens zu sehen. Ob nicht vielleicht auch eine zu reichliche Sterilisierung des Nährbodens stattgefunden hat und damit ein weiteres ungünstiges Moment hinzugekommen ist, entzieht sich meiner Beurteilung, und möchte ich diesen Punkt nur als eine immerhin denkbare Möglichkeit nicht unerwähnt lassen.

Ebensowenig vermag ich es zu verstehen, wenn Petkowitsch, der im übrigen dem Endoschen Boden volle Gerechtigkeit widerfahren läßt, zu dem Satze gelangen kann, daß die sogenannten Paratyphen bezw. Fleischvergifter zum Teil nach einiger Zeit den Fuchsinagar nach Art der Coli-Bakterien verändern. Demgegenüber möchte ich feststellen, daß sämtliche von mir untersuchten Paratyphusstämme und der B. enteritidis Gärtner auch nach 5-tägiger Beobachtung hierzu absolut nicht im stande sind.

Es nehmen wohl einzelne derselben innerhalb dieses Zeitraumes, welcher für die Diagnose von einer praktischen Bedeutung ja nicht mehr ist, eine gewisse fleischfarbene Rötung an, aber nie die typische, in die Umgebung ausstrahlende tiefe Fuchsinrotfarbe und den grünlich schillernden Metallglanz, welche beide für das B. coli so charakteristisch sind.

Ich sehe in dem, sowohl gegenüber dem echten Typhus wie den Paratyphen beider Typen, was die Farbe anlangt, übereinstimmenden Verhalten des Endoschen Nährbodens einen großen Vorzug des letzteren, da meines Erachtens die Erkrankungen an Paratyphus vom sanitären wie prophylaktischen Standpunkte genau ebenso zu beurteilen sind, wie echte Typhuserkrankungen, und befinde mich in diesem Punkte in voller Uebereinstimmung mit der von Kayser[1]) im gleichen Sinne ausgesprochenen Forderung.

a) Mischungen von B. coli mit B. typhi, paratyphi und enteritidis.

Von denselben gilt durchwegs das oben Gesagte bezüglich des Verhaltens der Kolonieen der verschiedenen Arten, wofern man nur dafür Sorge trägt, das auszusäende Material hinlänglich zu verdünnen, so daß wenigstens auf der letzten Platte alle Kolonieen sich frei entwickeln können. Das Bild ist bei diesen Mischungen eigentlich noch charakteristischer als bei den nur mit Reinkulturen beschickten Platten: Die dunkelroten, fast undurchsichtigen B. coli-Kolonieen stechen in der markantesten Weise von allen Typhus-, Paratyphus-, sowie den B. enteritidis-Kolonieen ab und die von den ersteren ausstrahlende, intensive Verfärbung des Nährbodens macht, wie von einer unsichtbaren Hand gehindert, in der Nähe der anderen Kolonieen Halt, die ihrerseits in einer farblosen Zone eingebettet liegen, welche bei längerer Beobachtung an Ausdehnung noch zunimmt.

---

[1]) Kayser, Heinrich, Die Bakteriologie des Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 154.)

Dieser durchaus charakteristische Befund erfährt auch innerhalb der nächsten 24 Stunden im großen und ganzen keine wesentliche Veränderung. Es sei daher nur kurz erwähnt, daß die Kolonieen sämtlicher untersuchten Arten an Größe zunehmen, wobei die Typen Paratyphus „B“ sowie B. enteritidis allen anderen überflügeln. Während die Paratyphen „A“ und „B“ auch weiterhin nahezu völlig farblos bleiben, stellt sich bei den Kolonieen des echten Typhus und des B. enteritidis manchmal — in der Aufsicht betrachtet — eine zarte Rosafärbung ein, und außerdem kommt es bei der Gruppe der Paratyphen „B“ zur Bildung eines blassen Randwulstes, so daß die letzteren in der Durchsicht nun deutlich doppelt konturiert erscheinen.

Alle diese eben genannten Veränderungen indessen kontrastieren in der schärfsten Weise mit den B. coli-Kolonieen, die um diese Zeit im reflektierten Lichte intensiven metallischen Fuchsinglanz zeigen, völlig undurchsichtig sind und ihre Umgebung weithin intensiv gerötet haben.

b) Künstlicher Stuhl.

Analog den Ergebnissen bei Gemengen von Reinkulturen gelang die Erkennung der jeweils zugesetzten Typhus- bezw. Paratyphusbacillen zu normalem Stuhl stets ohne besondere Schwierigkeit, sofern das Mischungsverhältnis zwischen den ersteren und Stuhl in runder Zahl 1 : 4000 nicht unterschritt. Dieses Ergebnis ist zwar kein ideales, indessen mit Rücksicht auf die geringe Menge Material, welche bei einer mittels ⌈-Glasstäben zu bewerkstelligenden Beschickung — gleichviel ob Endo- oder Drigalski-Conradi-Boden — zur Aussaat gelangen kann, auch nicht als ungünstiges zu betrachten, wie folgende kurze Erwägung illustrieren möge. Wird 1 ccm Stuhl mit $^{1}/_{10}$ Oese Typhusbouillonkultur versetzt und das Ganze zwecks Erreichung hinreichend isolierter Kolonieen im Verhältnis 1 : 100 verdünnt, so müßten, da an einem in eine Suspension eingetauchten ⌈-Glasstab im Durchschnitt freiwillig nicht mehr als 0,05 ccm = 1 gtt hängen bleibt, theoretisch — gleichmäßige ideale durch Schütteln bewirkte Verteilung vorausgesetzt — bei dem angegebenen Mischungsverhältnis insgesamt rund 200 000 B. coli- und 50 Typhuskeime auf sämtlichen Platten zur Aussaat gelangen.

Durch die von Roth[1]) entdeckte wichtige Tatsache, daß Koffeïn für Typhusbacillen elektiv entwickelungshemmend wirkt, indem es, allerdings nur innerhalb einer gewissen Breite, gleichzeitig anwesende Coli-Bakterien am Auskeimen verhindert, ist die Möglichkeit gegeben, in der Form einer Vorkultur erheblich günstigere Resultate zu erzielen, wie es außer Roths eigenen Versuchen die Arbeiten von Hoffmann und Ficker[2]) bezüglich des Nachweises von Typhusbacillen im Wasser und Stühlen, ferner unter anderem eine nach der Methode dieser Autoren

---

1) Hyg. Rundsch. Bd. XIII. 1903. p. 489 sowie Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. p. 199.

2) Hyg. Rundsch. Bd. XIV. 1904. Heft 1 sowie Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. Heft 3.

erfolgreiche Untersuchung der Moldau sowie des Prager Leitungswassers durch v. Jaksch und Rau[1]) und die Untersuchung von Kloumann[2]) beweisen. Eine gewisse Gefahr indessen würde in der prinzipiellen Verallgemeinerung einer Koffeïnvorkultur bei Untersuchung verdächtigen Materials insofern liegen, als nach der Angabe des zuletzt genannten Autors Paratyphus Typ. „Schottmüller A“ durch Koffeïn noch stärker als B. coli geschädigt wird.

c) Typhusverdächtige Stühle.

Das Material war einmal der Zahl nach ein beschränktes, und dann in noch höherem Maße der Umstand erschwerend, daß es in der Mehrzahl klinisch meist unklare Fälle waren, über deren späteren Verlauf leider nichts in Erfahrung gebracht werden konnte.

Gleichwohl glaube ich aber auch an der Hand dieser wenigen Daten die Brauchbarkeit des Endo-Bodens zeigen zu können. Im ganzen klinisch sichergestellt waren 5 Fälle. In 2 davon, welche das Bild eines echten Abdominaltyphus boten, gelang es beidemal ohne weiteres, auf den Endoplatten die typhusverdächtigen Kolonieen zu erkennen und dieselben durch die weiteren üblichen Methoden als echte Typhusbacillen zu identifizieren. In dem ersten dieser Fälle stammte das Material aus der 3. Woche, zu welcher Zeit ein Zweifel über die Art der Erkrankung nicht mehr bestand; im zweiten Falle handelte es sich um den Verdacht eines beginnenden Typhus. In diesem letzteren Falle konnte auf den Drigalski-Conradi-Platten zwischen den zahlreichen B. coli-Kolonieen nach angestrengtestem Suchen nur eine blaue Kolonie konstatiert werden, während das Auffinden diverser Typhuskolonieen auf den entsprechenden Endo-Platten sofort gelang.

In den 3 anderen Fällen ergab die bakteriologische Untersuchung auch nicht eine einzige verdächtige Kolonie, und die weitere klinische Beobachtung bestätigte dann diesen negativen Befund.

In den übrigen Fällen, welche sämtlich von auswärts, meist mit der lakonischen Bemerkung „Stuhl eines Typhusverdächtigen“ zur Untersuchung eingesandt waren, konnte 2mal Paratyphus, sowie je 1mal B. enteritidis und B. faecalis alcaligenes nachgewiesen werden.

Leider waren, wie schon erwähnt, Berichte über den weiteren klinischen Verlauf nicht erhältlich, und somit entziehen sich diese Fälle einer kritischen Besprechung.

Auch 3 vorher mittels Desinfizientien behandelte Stühle gelangten zur Untersuchung. Ich würde diese Tatsache nicht erwähnen, wenn nicht einer derselben — zwei erwiesen sich als absolut keimfrei! — insofern ein gewisses Interesse besitzt, als bei dessen Verarbeitung auf Drigalski-Conradi-Boden eine Anzahl Kolonieen besonders widerstandsfähiger Kokken sich entwickelte, während die gleichzeitig beschickten Endo-Platten völlig steril blieben.

Diese Beobachtung, daß die Kokken des Stuhls auf Drigalski-Conradi-Platten noch zum Auskeimen gelangten, während dieselben auf den korrespondierenden Endo-Platten sich überhaupt nicht mehr entwickelten, konnte ich wiederholt machen.

Bei einem Vergleiche von Endo-Stuhlplatten mit solchen von Drigalski-Conradi möchte ich im wesentlichen folgende Punkte hervorheben:

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. Heft 4. p. 584.

[2]) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. Heft 2. p. 312.

1) Die Kokken des Stuhles, deren Entwickelung auch durch das zu diesem Zwecke dem Drigalski-Conradi-Boden zugesetzte Kristallviolett durchaus nicht immer zurückgehalten wird, sind der überwiegenden Mehrzahl nach ausgesprochene Säurebildner und wachsen dementsprechend auf diesem Nährboden rot, manchmal den ganzen Nährboden total verfärbend, so daß andersfarbige Kolonieen in demselben nicht mehr zu erkennen sind, falls die ersteren, wie nicht selten, in großen Mengen vorhanden sind. Daneben kommt bisweilen eine nicht säurebildende Kokkenart vor, welche auf Drigalski-Conradi-Boden in kleinen blauen Kolonieen wächst. Beide Gruppen, die säurebildenden und die letzteren, gelangen auf dem Endoschen Boden, welcher für dieselben offenbar sehr ungünstige Lebensbedingungen bietet, im allgemeinen viel seltener und spärlicher bezw. gar nicht zum Wachstum; namentlich die ersteren werden in exquisitem Maße in der Entwickelung behindert und fast immer gänzlich zurückgehalten. Die nicht säurebildende Gruppe wächst, falls es überhaupt zum Auskeimen kommt, in sehr kleinen, nahezu farblosen Kolonieen, welche schon wegen ihrer auffallenden Kleinheit bei dem Suchen nach verdächtigen Kolonieen ohne weiteres auszuschalten sind.

2) Verdächtige Kolonieen sind entschieden leichter auf Endo-Boden zu erkennen als auf Drigalski-Conradi-Boden. Das Gesamtbild ist nicht ein so buntes wie beim letzteren, auf dem sehr oft alle möglichen Uebergänge von blau bis rot herrschen und namentlich, wenn die Kolonieen dicht gedrängt stehen, das Material arm an Typhus- bezw. verwandten Keimen ist und infolge einer nicht immer absolut gleichmäßig ausfallenden Beschaffenheit der Lackmustinktur die Prägnanz der Farbenunterschiede Einbuße erleidet, die Erkennung der fraglichen Kolonieen mitunter recht mühsam und zeitraubend ist.

3) Eine Anzahl anderer, auf Stuhlplatten öfters wachsender Kolonieen gehören der Mehrzahl nach der Gruppe des B. subtilis sowie des B. proteus an, gelegentlich zeigt sich auch B. fluorescens. Dieselben wachsen — wie es schon von Drigalski und Conradi in ihrer eingangs zitierten Originalarbeit angegeben ist — auf Lackmusboden mehr oder weniger blau. Auf Endo-Boden verhalten sie sich nicht ganz übereinstimmend, indem die Vertreter der beiden erstgenannten Gruppen bereits nach 22 Stunden bei 37° den in der unbeschickten Kontrollplatte gänzlich farblos bleibenden Nährboden in toto rötlich verfärben und in der Form von rosa bis fleischfarbenen Kolonieen wachsen, die weder mit B. coli noch mit Typhus die geringste Aehnlichkeit haben. B. fluorescens liquefaciens dagegen wächst, ohne den Nährboden im geringsten zu beeinflussen, in farblosen, dem Typhus an Größe sehr ähnlichen Kolonieen mit leicht gezähneltem Rande. Die Ueberimpfung auf eine Reihe weiterer Nährböden, hier in erster Linie Gelatine, eventuell in Verbindung mit der spezifischen Serumreaktion, gibt sehr bald den wünschenswerten Aufschluß.

VI. Rötung des Nährbodens. Eine gewisse, manchmal beim Aufenthalt im Thermostaten sich einstellende Rotfärbung, welche, wie eingangs erwähnt, in erster Linie, wenn nicht ausschließlich, auf die Verwendung nicht gänzlich unverwitterten Natriumsulfits zurückzuführen ist, schadet in keiner Weise. Ich möchte im Gegenteil behaupten, daß, sofern die Rötung keinen sehr erheblichen Grad erreicht, dadurch die Auffindung verdächtiger Kolonien erleichtert wird, da dieselben durch einen von ihnen ausstrahlenden lichten Hof, welcher sehr schnell völlig farblos wird, sofort in dem rötlich verfärbten Nährboden auffallen.

VII. Verhalten bei künstlichem Licht. Ist man gezwungen, bei künstlichem Lichte zu arbeiten, wie es im Winter zwecks Untersuchung eintreffender Stühle oft unvermeidlich ist, so gelingt die Erkennung verdächtiger Kolonieen auf Endo-Boden viel leichter als auf Drigalski-Conradi, bei welchem die oft nur zarten Farbendifferenzen, namentlich bei Auerlicht, so verändert bezw. geradezu ausgelöscht sind, daß eine sichere Beurteilung einfach nicht mehr möglich und Trugschlüsse unvermeidlich sind.

VIII. Definitive Identifizierung der als verdächtig angesprochenen Kolonieen. Dieselbe hat naturgemäß analog der Benutzung von Drigalski-Conradi-Boden in der heute wohl allgemein üblichen Methode einer gleichzeitigen Impfung der verschiedenen hierfür in Betracht kommenden Nährsubstrate zu erfolgen, also Bouillon, Gelatine, Traubenzuckeragar, Neutralrot, Lackmusmolke und Milch. Das entscheidende Wort hat schließlich die spezifische Serumreaktion zu sprechen. — Bezüglich des Rothberger-Scheffler-schen Neutralrots möchte ich bemerken, daß dasselbe in der von Oldekop[1]) angegebenen Modifikation — Zusatz von nur 0,3 Proz. Agar — weitaus die besten Resultate ergibt. Die Konsistenz des Neutralrots wird dadurch zwar zu einer gallertigen und die Erkennung von Gasbildung, sofern dieselbe nicht äußerst energisch erfolgt, illusorisch, da die Gasblasen aus dem fast halbflüssigen Nährboden, ohne erheblichen Widerstand zu finden, entweichen. Dafür tritt aber die Fluoreszenz und die beginnende Entfärbung des Neutralrots sicher innerhalb 16 bis längstens 20 Stunden bei 37° ein, während bei höherem Agargehalt das oft erst nach 48 Stunden und noch später der Fall ist. Da nun die Schnelligkeit des Eintrittes der charakteristischen Veränderung des Neutralrots jedenfalls die Hauptsache ist, so ist die Oldekopsche Modifikation als eine sehr glückliche zu betrachten. Zur Erkennung der Gasbildung dient dann eben das gleichzeitig zu impfende Traubenzucker-Agarröhrchen.

Was die Anstellung der spezifischen Serumreaktion in der Form der Agglutination anlangt, so sei es mir gestattet, an dieser Stelle auf einige Punkte in möglichster Kürze hinzuweisen.

In stürmischen Epidemiezeiten, wenn Gefahr im Verzuge, mag man wohl getrost direkt von einer verdächtigen Kolonie eine Agglutinationsprobe anstellen, und bei zweifelhaftem bezw. fraglich erscheinendem Befund lieber einen Fall als suspekt anmelden, der sich später nicht als ein solcher erweist. Innerhalb längstens 20 Stunden weiterer Beobachtung ist man in der Lage, die abgegebene Diagnose definitiv zu bestätigen oder entsprechend zu berichtigen. Der entgegengesetzte Fall würde verhängnisvolle Konsequenzen nach sich ziehen, und ich schließe mich, unter der eben gemachten Einschränkung, der Ansicht Drigalskis und Conradis, welche sich in diesem Sinne aussprechen, durchaus an.

Im allgemeinen aber halte ich es für richtiger, die Agglutinationsprobe nicht direkt von der Platte weg anzustellen.

Denn einmal ist die Menge Bakterien, die bei einer Entnahme

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 120.

mittels der Nadel an dieser haften bleibt, eine sehr schwankende, und bekanntermaßen die Anzahl der bei der Agglutination beteiligten Bakterien von erheblichem Einfluß auf die Art sowie den Verlauf des Zustandekommens derselben.

Sodann zeigen die direkt von einer Kolonie entnommenen Bakterien gar nicht selten eine auffallend geringe Beweglichkeit, welche die Erkennung des Eintritts der Agglutination, sofern sich dieselbe überhaupt in mäßigen Grenzen hält, zum mindesten verzögert. Diese unliebsamen Erscheinungen erfahren dann noch eine erhebliche Verstärkung, wenn die betreffenden Stämme ohnedies die Neigung haben, sich im hängenden Tropfen am Deckglas zu kleinen Klümpchen auch im Kontrollpräparate zusammenzuschließen. Schließlich ist, vorausgesetzt, daß zu Zwecken der Agglutinationsprüfung lediglich Typhusserum zur Verfügung stehen sollte, auch damit zu rechnen, daß manche Paratyphen im Verhältnis von 1 : 500 und darüber — so z. B. der in vorliegenden Versuchen benutzte Stamm Paratyphus B „Freiburg" — eine deutliche Agglutination mit echtem Typhusserum liefern. Wenngleich ich nun dem zuletzt betonten Punkte aus dem früher erwähnten Grunde nur eine relative Bedeutung zuerkennen, so ist derselbe doch nicht gänzlich unberücksichtigt zu lassen, da nach den bisher vorliegenden Literaturangaben die Erkrankungen an Paratyphus im allgemeinen leichter verlaufen und somit bezüglich der Prognose die bakteriologische Diagnose immerhin ihren Wert behält.

Alle diese eben aufgeführten Mißstände vermeidet man, wenn man von einer jungen Bouillonkultur behufs Anstellung der Agglutinationsprobe ausgeht. Hier vermag man genau zu dosieren und kann mit ruhigem Gewissen ein positives Gutachten abgeben, wenn die mikroskopische Agglutination — vorgenommen mittels spezifischer Tiersera von Typhus oder Paratyphus „A" und „B" von einem Titre von 1 : 10000 — sofort das typische Bild der echten Agglutination bietet: ausgedehnte Schollenbildung und Immobilisierung der überwiegenden Mehrzahl der freien Bakterien in einer Konzentration von 1 : 1000.

Gleichzeitig haben sich dann auch die auf den anderen Nährböden angelegten Kulturen — längstens nach weiteren 20 Stunden — so weit entwickelt, daß dieselben zur Stützung bezw. Entscheidung der bakteriologischen Diagnose beizutragen im stande sind.

Fehlt jede Spur einer Gasbildung im Traubenzuckeragar, jede Spur einer Fluoreszenz im Neutralrot, ist Milch nicht geronnen, Lackmusmolke fast unverändert oder deren Farbenton nur leicht gegen Rot verschoben, gleichzeitig dabei klar geblieben, und erfolgt prompte, typische Agglutination gegenüber Typhusserum unter den angegebenen Bedingungen, so ist an der Identifizierung eines echten Typhus kein Zweifel, da B. typhoides liquefaciens, der auf den betreffenden Nährböden genau so wächst, durch Typhusserum in dem angezogenen Verhältnis nicht beeinflußt wird, B. faecalis alcaligenes um diese Zeit die Lackmusmolke gebläut haben muß, und der Shiga-Krusesche Dysenteriebacillus schon durch seine Unbeweglichkeit von vornherein auszuschalten ist.

Ist dagegen auf Traubenzuckeragar Gasbildung eingetreten, Neutralrot fluoreszierend oder bereits im Stadium der Entfärbung, Milch nicht geronnen, Lackmusmolke leicht bis deutlich rot bei gleichzeitiger Klarheit oder höchstens zarter Trübung, so wird es sich im wesentlichen nur um Paratyphus oder Bacillen aus der Gruppe der Fleischvergifter handeln. Die Entscheidung liefert auch hier die Agglutinationsprobe mit Paratyphusserum beider Typen.

Sollte endlich, infolge einer vielleicht bei sich drängender Arbeit vor der 20. Stunde vorgenommenen Abimpfung versehentlich eine B. coli-Kolonie übertragen worden sein, welche sämtliche soeben aufgeführten Veränderungen in den beschickten Nährböden in exquisitem Maße verursacht — wobei neben der ausgesprochenen Rötung der Lackmusmolke eine deutliche Trübung Hand in Hand geht — und sollte überdies der betreffende B. coli-Stamm die Eigenschaft einiger Vertreter dieser Gruppe teilen, Milch erst nach längerer Zeit, nach etwa 30—40 Stunden, zur Gerinnung zu bringen, so genügt schon die Revision der abgeimpften Kolonie auf der Endo-Platte nach weiteren wenigen Stunden, welche dann sicher fuchsinrot geworden ist, um den Irrtum aufzuklären, so daß jede Agglutinationsprobe überflüssig wird.

Zum Schluß möchte ich mein Urteil über den Wert des Endoschen Nährbodens folgendermaßen kurz zusammenfassen:

1) Derselbe ist einfach und schnell herstellbar, dabei billig bezüglich der zu seiner Bereitung nötigen Materialien.

2) Er ermöglicht, richtig zubereitet, die mühelose Unterscheidung der B. coli-Arten von Typhus, Paratyphus „A“ und „B“ sowie von B. enteritidis Gärtner innerhalb längstens 24 Stunden bei 37°, indem B. coli fuchsinrot, alle anderen genannten nahezu oder gänzlich farblos wachsen.

3) Er ist in dieser Hinsicht dem Drigalski-Conradischen Nährboden nicht nur ebenbürtig, sondern demselben, namentlich beim Arbeiten mit künstlichem Lichte, entschieden überlegen.

4) Er hält die Entwickelung der Kokken des Stuhles weit mehr, als dies der Lackmusboden trotz Kristallviolettzusatz vermag, zurück bezw. verhindert dieselben überhaupt am Auskeimen.

5) Vertreter der Subtilis- sowie der Proteus-Gruppe, welche im Stuhl nicht so selten vorkommen und auf Lackmusboden blau wachsen, lassen sich auf Endo-Boden gegen die 20. Stunde sowohl von den Typhus- sowie Paratyphus- und Enteritidis-Bacillen einerseits wie von B. coli andererseits ohne weiteres unterscheiden.

6) Eine gewisse Rotfärbung des Endoschen Nährbodens schadet nichts, ist im Gegenteil für die leichte Erkennung verdächtiger Kolonieen eher von Vorteil.

Heidelberg, Dezember 1904.

Nachschrift.

Nach Abschluß vorstehender Abhandlung gelangt eine Arbeit von Klinger[1]) zu meiner Kenntnis, welcher an der Hand eines außerordentlich reichen Materials — dem Verf. standen 355 Typhus- bezw. typhusverdächtige Stühle zur Verfügung — die neuesten Verfahren zum

---

1) Klinger, P., Ueber neuere Methoden zum Nachweis des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1904. (Ref. im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1904. Heft 19/21. p. 655.)

Nachweis der Typhusbacillen sowohl auf ihren absoluten Wert wie auf ihr diesbezügliches Verhalten zueinander untersuchte. Es wurden einmal Drigalski-Conradi- sowie Endo-Boden in gleichzeitigen Versuchen geprüft, außerdem die Anreicherungsverfahren mittels Malachitgrün und Koffeïn. Klinger gelangt dabei zu dem Urteil, daß der Endo-Boden aus verschiedenen Gründen — es sind dies zum großen Teil dieselben, welche ich oben eingehend geschildert habe — dem Lackmusboden bei gleichen Vorteilen überlegen ist, und beweist dies durch entsprechendes Zahlenmaterial. Durch Anwendung von Vorkulturen mittels Malachitgrünagar nach Lentz und Tietz sowie der Koffeïnbouillon nach Ficker und Hoffmann konnten die Resultate wesentlich verbessert werden, wobei Verf. dem Malachitgrün den Vorzug erteilen zu sollen glaubt. Lediglich durch letzteres Verfahren gelang ihm in 3 Fällen der Nachweis von Paratyphus — über das Wachstum des letzteren auf Endo-Boden ist allerdings nichts mitgeteilt — wodurch die von Kloumann gemachte Beobachtung einer direkten Schädigung des Paratyphus „A“ durch Koffeïn, auf deren Bedeutung ich im vorstehenden hingewiesen habe, eine Bestätigung erfahren dürfte.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Bewertung der differentiellen Methoden zur Färbung des Diphtheriebacillus.

[Aus dem chemisch-bakteriologischen Institut des Dr. Ph. Blumenthal in Moskau.]

Von Dr. **J. M. Blumenthal** und Dr. **M. Lipskerow**, Moskau.

Der Diphtheriebacillus nimmt jeden beliebigen Farbstoff auf und bietet infolge seines Polymorphismus erhebliche Schwierigkeiten für eine exakte und schnelle mikroskopische Diagnose dar. Eben deswegen waren die Bestrebungen sämtlicher Forscher darauf gerichtet, eine differentielle Methode zur Färbung der Diphtheriebacillen zu finden. Zu diesem Zwecke benutzte Hunt eine aus Methylenblau, Gentianorange und Gerbsäure bestehende Lösung, Crouch hingegen eine Lösung von Methylgrün und Dahlia (1-proz. Methylgrün 5 Teile, 1-proz. Dahlia 1 Teil und destill. Wasser 4 Teile). Bei diesem Verfahren waren die Diphtheriebacillen schwach grün, die beiden Polkörner dagegen rötlich gefärbt. Seine Färbemethode bezeichnete Crouch als „Reaktion auf die Löfflerschen Stäbchen“. Es folgte bis auf Neisser eine ganze Reihe von anderen Forschern (Gossage, Kanthack, Gross u. a.), welche ebenfalls ihre Färbemethoden empfahlen, aber diese erwiesen sich als praktisch nicht recht brauchbar. Im Jahre 1897 trat Neisser mit seinem Verfahren hervor, welches im folgenden besteht:

Auf das fixierte Präparat wird für $1/2$—1 Minute eine Lösung von

Methylenblau	1,0
Alkohol (95-proz.)	20,0
Acid. acetic. glacial.	50,0

gegossen; sodann wird das Präparat unbedingt mit destilliertem Wasser (Kurth) abgespült, wonach auf dasselbe eine halbe Minute lang mit einer

1-prom. wässerigen Lösung von Bismarckbraun[1]) eingewirkt wird. Bei der mikroskopischen Betrachtung der so gefärbten Präparate stellen die Diphtheriebacillen blaßgelbe Stäbchen mit dunkelblauen Körnern an den beiden Enden und in der Mitte, oder nur an den Enden, dar. Das Prinzip dieses Verfahrens besteht in dem Verdrängen eines schwachen Farbstoffes seitens eines stärkeren. Die Körner, welche den intensiven blauen Farbstoff aufgenommen haben, färben sich nicht mehr mit dem schwächeren gelben. Das Neissersche Verfahren gewann allgemeine Beachtung und verdrängte bald alle übrigen bis dahin gebräuchlichen Methoden.

In der Tat kann dieses Verfahren als eine differentielle Färbemethode für Diphtheriebacillen bezeichnet werden, und gegenwärtig trägt jedes Verfahren zur differentiellen (Pol-)Färbung der Diphtheriebacillen die Bezeichnung „Neisserfärbung". Die Pseudodiphtheriebacillen weisen bei seiner Anwendung keine Körner auf; die intensiv blau gefärbten Körner der Diphtheriebacillen heben sich scharf vom hellgelben Hintergrunde ab, was eine exakte Diphtheriediagnose bei der mikroskopischen Untersuchung gestattet. Als aus den in der Folge erschienenen Arbeiten verschiedener Forscher (Bronstein, sodann Neisser selbst) ersichtlich wurde, daß mit diesem Verfahren auch in den unmittelbar aus den Rachenbelägen gefertigten Strichpräparaten noch vor der Gewinnung von Kulturen vortreffliche Resultate erzielt werden können, was die Möglichkeit verlieh, die bakterioskopische Diagnose um 16 Stunden früher zu stellen, trat die Neissersche Methode vollends an die erste Stelle. Nichtsdestoweniger sind seit der Zeit, wo Neisser sein Verfahren veröffentlicht hat, bis zur Gegenwart 13 verschiedene Modifikationen seiner Methode in Vorschlag gebracht worden. Dieser Umstand weist unzweifelhaft darauf hin, daß die Neissersche Methode demnach nicht allen Anforderungen entspricht, welche an eine ideale Färbungsmethode zu stellen sind. Ausgehend von diesem Gesichtspunkte und vor die Notwendigkeit gestellt, bei der Untersuchung des enormen Diphtheriematerials unseres Laboratoriums uns an irgend ein bestes und zweckmäßigstes Verfahren zu halten, machten wir es uns zur Aufgabe, zu prüfen, inwiefern jede der bis jetzt empfohlenen Methoden für Laboratoriumszwecke anwendbar ist. Die Anforderungen, welche unseres Erachtens an eine ideale differentielle Färbungsmethode zu stellen sind, sind folgende:

1) Die Färbung darf keine Körnungen in Pseudodiphtheriebacillen erkennen lassen.

2) Die Körner in den Diphtheriebacillen müssen scharf hervortreten und womöglich in sämtlichen Stäbchen vorhanden sein.

3) Die Stäbchen selbst müssen deutliche Konturen und Zeichnung aufweisen.

4) Die das empfohlene Gemisch zusammensetzenden Farbstoffe müssen Kontrastfarben sein.

5) Das Färbungsmittel muß zufriedenstellende Resultate in Strichpräparaten aus Kulturen und, was noch wichtiger ist, in solchen aus Belägen liefern.

Untergeordnete Anforderungen:

1) Die Ausführung der Färbung muß in dem kürzesten Zeitraum vor sich gehen.

---

[1]) Der Farbstoff muß in heißem Wasser gelöst werden.

2) Die Einwirkung des Leitungswassers beim Abspülen des Präparates muß behoben werden.

3) Es ist ein solches Farbengemisch herzustellen, dessen Bestandteile die Stäbchen in die eine, die Körner in die andere, und zwar in die Kontrastfarbe zu tingieren hätten.

Nachdem wir uns zur Aufgabe gestellt hatten, die bis jetzt empfohlenen Methoden einer kritischen Prüfung zu unterziehen, und die an ein ideales Verfahren zu richtenden Ansprüche stipuliert waren, schritten wir an die Arbeit.

Als Material für unsere Untersuchungen dienten 60 von uns gezüchtete Reinkulturen von Diphtheriebacillen, 10 Reinkulturen von Pseudodiphtheriebacillen und an die 3000 Diphtheriemembranen.

Die Gewinnung von Reinkulturen wurde von uns auf die allgemein übliche Weise vorgenommen. Eine Oese Material wurde auf eine Petri-Schale mit geronnenem Serum verimpft und diese für 16 Stunden in den Brutschrank bei 37° gestellt; hierauf machten wir mit der Nadel aus einer Kolonie eine Ueberimpfung in ein Röhrchen mit erstarrtem Blutserum, aus welchem wir nach Verlauf von 16 Stunden behufs Kontrolle der Reinheit der Kultur auf Glycerinagar überimpften. Anfangs versuchten wir Reinkulturen nach der Methode von Banti-Schabad zu gewinnen (eine Oese des Impfmaterials wird in ein Röhrchen mit Gelatine übertragen, das in den Brutschrank bis zur Verflüssigung der Gelatine gestellt wird, aus welcher erst eine Oese zur Verimpfung auf erstarrtes Serum genommen wird). Bald jedoch gaben wir dieses Verfahren wegen seiner Kompliziertheit auf. Recht gute Resultate erzielten wir auch mit der Methode von Drigalski, welche gewöhnlich zur Reinzüchtung von Typhuskulturen angewendet zu werden pflegt (eine Oese des Impfmaterials wird in ein Röhrchen mit steriler Bouillon oder Wasser übertragen, sodann wird ein Teil der geimpften Flüssigkeit in eine Petri-Schale mit erstarrtem Serum gegossen und mit einem besondern Glasstäbchen gleichmäßig über die ganze Oberfläche des Serums verteilt).

Methode von Crouch.

Auf das fixierte Präparat wird für 1—2 Sekunden eine Mischung von folgender Zusammensetzung gegossen:

1-proz. Lösung von Methylgrün	5 Teile
1-proz. Lösung von Dahlia	1 Teil
Wasser	4 Teile.

Mit dem Verfahren von Crouch haben wir in vielen Fällen keine befriedigenden Ergebnisse zu verzeichnen gehabt. Nach Crouch wird keine Kontrastfärbung erzielt, so daß die Diphtheriebacillen in verunreinigten Kulturen oder Rachenbelägen nur mit Mühe aufgefunden werden können; außerdem ist es uns trotz allen Bemühens nicht gelungen, rötlich gefärbte Körner, wie sie Crouch beschreibt, in den Stäbchen sichtbar zu machen: Stäbchen wie Körner waren gleichmäßig violett gefärbt, wobei die letzteren nicht deutlich wahrzunehmen waren.

Methode von Neisser.

Diese Methode ist bereits oben beschrieben worden. Daß sie nicht allen Anforderungen entspricht, die an eine ideale Färbungsmethode zu stellen sind, erhellt schon daraus, daß gegenwärtig Neisser selbst eine neue Modifikation seines Verfahrens empfohlen hat (s. u.). In der Tat resultieren bei Anwendung dieser Methode solch zarte Bilder, die Konturen der Stäbchen sind derartig undeutlich, daß ein ungeübter Untersucher die Körner der Diphtheriebacillen als Kokken ansprechen kann, besonders wenn in dem Strichpräparate außer den Diphtheriebacillen noch zahlreiche andere Mikroorganismen vorhanden sind, was auch der Fall zu sein pflegt.

Zu den weniger erheblichen Mängeln dieses Verfahrens gehört das unbedingte Erfordernis, sich zum Abspülen des Präparates destillierten Wassers zu bedienen, da sonst die Färbung häufig nicht gelingt.

Modifikation von Bronstein.

Im Jahre 1899 erschien eine Arbeit von **Bronstein** über die bakterioskopische Diagnose der Diphtheriebacillen, in welcher er als erster empfahl, die **Neisser**sche Färbung für die Bakterioskopie von Strichpräparaten aus Belägen zu benutzen, und unter anderem eine Modifikation des **Neisser**schen Verfahrens beschreibt, die darin besteht, daß das Methylenblau durch den Farbstoff Dahlia ersetzt wird, welcher, worauf **Roux** hinweist, gewissermaßen eine größere Affinität zu den Körnern der Diphtheriebacillen besitzt als das Methylenblau.

I.	Dahlia	1,0
	Alkohol (95-proz.)	20,0
	Acid. acetic. glacial.	50,0

für $^1/_2$—1 Minute, sodann Abspülung des Präparates mit destilliertem Wasser. Darauf

II.	Bismarckbraun	1,0
	Aq. destill.	100,0

für $^1/_2$ Minute.

Bei der Färbung mit Dahlia treten die Polkörner viel inteusiver hervor als bei der mit Methylenblau, aber dafür kommt mitunter keine Doppelfärbung zu stande, während nach **Neisser** die Körner stets deutlich sichtbar sind. Alles in allem haben wir mit diesem Verfahren keine besseren Resultate erzielt als mit der **Neisser**schen Methode; überdies ist aus den Ausführungen des Autors selbst zu ersehen, daß er seinem Verfahren keine besonderen Vorzüge zuerkennt.

Modifikation von Coles.

Im selben Jahre empfahl **Coles**, zwischen die erste und zweite **Neisser**sche Farbstofflösung die **Lugol**sche Lösung einzuschalten.

1) I. **Neisser**sche Lösung (10—30 Sek., mit Wasser abspülen).
2) $J + JK + H_2O$ (1 : 2 : 300) (10—30 Sek., mit Wasser abspülen).
3) II. **Neisser**sche Lösung (10—30 Sek.).

Die Einschaltung der **Lugol**schen Lösung ist unstreitig von Bedeutung. Bei unseren Nachprüfungen waren die Körner in einer größeren Anzahl von Diphtheriebacillen sichtbar, die Stäbchen selbst waren recht scharf konturiert. Die diesem Verfahren anhaftenden Mängel bestehen darin, daß es komplizierter ist als die **Neisser**sche Methode, während die mikroskopischen Bilder nur wenig deutlicher sind als die mit der letzteren Methode erzielten.

Methode von Piorkowsky.

Im Jahre 1900 empfahl **Piorkowsky** seine Methode, welche in folgendem besteht. Auf das Präparat wird **Löffler**sches Blau gegossen und 1—2 Minuten lang[1]) stark erhitzt; hierauf wirkt man auf das Präparat 1 Sekunde lang mit 3-proz. Salzsäurealkohol ein, spült mit Wasser ab und gießt für 10 Sekunden eine 1-proz. wässerige Eosinlösung auf. Die Körner sollen dabei eine intensiv blaue Färbung annehmen, während die Stäbchen sich rosig färben. Trotz allen Bemühens ist es uns jedoch nicht gelungen, solch deutliche Bilder zu erzielen. Die Stäbchen färben sich allerdings schön rosig, aber ihre Konturen sind undeutlich, die Polkörner klein und nicht scharf umgrenzt. Die Methode ist kompliziert: 3 verschiedene Gemische, die Notwendigkeit, das Präparat zu erwärmen — alles dies erschwert die Verwendung dieses Verfahren für Laboratoriumszwecke.

Methode von Pitfield.

Im Jahre 1901 empfahl **Pitfield** seine Färbungsmethode:

A)	Argent. nitric.	5,0
	Aq. destill.	5,0
	Gesättigte alkohol. Fuchsinlösung	3 ccm
B)	Acid. pyrogallic.	1,0
	10-proz. Natronlauge	5 ccm
	Aq. destill.	10 ccm
C)	Karbol-Fuchsin	10 Tropfen
	Aq. destill.	10 ccm

1) Auf das fixierte Strichpräparat wird die Farbstofflösung A gegossen und bis zum Kochen erhitzt.

2) Abspülen mit Wasser.

3) Aufgießen der Lösung B und abermaliges Erhitzen bis zum Kochen.

4) Aufgießen der Lösung C und 2 Min. lang einwirken lassen.

5) Abspülen mit Wasser, Trocknen u. s. w.

Dieses Verfahren lieferte mitunter prächtige Bilder. Die Diphtheriebacillen färbten sich schön rot, die Polkörner schwarz und traten scharf hervor. Die Ausführung dieser Methode ist jedoch so sehr kompliziert, erfordert so große Sorgfalt und nimmt so viel Zeit in Anspruch, daß sie in der täglichen Praxis wohl kaum ausgedehnte Anwendung finden kann.

Methode von De Rovaart.

De Rovaart (1903) erklärt sich mit dem ersten Teil der Methode von **Piorkowsky** (**Löffler**sches Blau für 1—1$^1/_2$ Min.) einverstanden, hält jedoch die Behandlung mit salzsaurem Alkohol für überflüssig und empfiehlt außerdem anstatt der Eosinlösung eine Vesuvinlösung.

Ausführung: 1) **Löffler**sches Blau (erwärmen 1—1$^1/_2$ Min. lang);
2) Abspülen mit Wasser;
3) 1—1$^1/_2$ Min. lange Behandlung mit Vesuvin 1-prom.

Bei diesem Verfahren sind die Polkörner größer und schärfer konturiert.

Nach unseren Beobachtungen besitzt diese Methode, was die Deutlichkeit des Bildes anlangt, keine besonderen Vorzüge vor dem **Neisser**schen Verfahren und ist überdies bei weitem komplizierter.

Methode von Falières.

Im Jahre 1902 empfahl **Falières** eine Modifikation der **Neisser**schen Methode, welche darin besteht, daß anstatt des Acid. acetic. glacial. Borax benutzt wird.

---

1) Wir benutzten die uns vom Herrn Verfasser liebenswürdigst übersandte Originalarbeit, in welcher die entsprechenden Zahlen von ihm selbst abgeändert waren.

Methylenblau	2,0
Boracis	0,5
Aq. destill.	100,0
Alcohol. absol.	gtts. VIII

Mit Leitungswasser abspülen; hierauf eine halbe Minute lang eine 1-prom. wässerige Vesuvinlösung einwirken lassen.

Mit diesem Verfahren erzielten wir vorzügliche Resultate; die Polkörner waren größer als bei der Neisserschen Methode, färbten sich dunkelblau und traten scharf aus dem hellbraunen Grunde hervor; Polkörner wurden in einer größern Anzahl von Bacillen wahrgenommen, die Umrisse der Stäbchen waren deutlich sichtbar. Das Präparat kann mit Leitungswasser abgespült werden, worunter die Deutlichkeit des Bildes nicht im geringsten leidet.

Methode von Schaufler.

Fast gleichzeitig mit Falières veröffentlichte Schaufler seine Methode, welche darin besteht, daß das fixierte Präparat 1 Minute lang mit einer Lösung von Löfflerschem Blau, Pyronin und 3-proz. Salzsäure-Alkohol behandelt wird.

Filtrierte Lösung von Löfflerschem Blau	10,0 ccm
„ „ „ Pyronin Grübler (5-proz.)	1,5 „
3-proz. Salzsäure- (25 Proz.) Alkohol	0,5 „

(Die genaue Vorschrift entnehmen wir der uns von Herrn Piorkowsky liebenswürdig übersandten Schauflerschen Originalarbeit.)

Die Polkörner sollen sich dabei intensiv rot, die Bacillenleiber blau färben.

Schon a priori ist es wohl kaum anzunehmen, daß Löfflers Methylenblau als Kernfarbe dem Pyronin den Platz einräumen wird, und in der Tat haben wir auch bei sorgfältigster Herstellung der Farbstofflösung und der Präparate keine solchen mikroskopischen Bilder erzielen können, wie sie der Autor beschreibt. In der Mehrzahl der Fälle war das ganze Stäbchen mitsamt den in ihm eingeschlossenen Körnchen gleichmäßig rot gefärbt, wobei die Granula sich nur undeutlich abheben. Falls die Farbe derartige Resultate liefern würde, wie der Verfasser angibt, so wäre sie ein ideales Färbungsmittel, da in dem Gemisch die eine Komponente dem Bacillenkörper, die andere den Granula verschiedene Kontrastfarben mitteilen würde.

Methode von Ficker.

Im Jahre 1902 empfahl Ficker für die Färbung der Diphtheriebacillen eine 1-prom. Lösung von Methylenblau, zu welcher 2 ccm von Acid. lactic. puriss. zugesetzt werden. Mit dieser Lösung wird auf ein Deckglaspräparat eine Minute lang eingewirkt. Durch diese Diphtheriebacillenfärbung sollen sehr schöne Bilder zu stande kommen: in jedem Individuum werden 2—3 dunkelblau gefärbte Körnchen wahrgenommen, während der übrige Teil des Bacillenleibes ungefärbt bleibt. Durch das angegebene Verfahren wird erreicht, daß der Farbstoff nur in der granulären Substanz abgelagert wird.

Mit dieser Methode haben wir jedoch keine befriedigenden Ergebnisse erzielt. Schon der Umstand, daß bei dem bezeichneten Verfahren auch die Körnchen der Pseudodiphtheriebacillen zum Vorschein treten, macht es zu einem praktisch unbrauchbaren. Dieser Uebelstand ist auch Ficker nicht entgangen, welcher in seiner Arbeit mitteilt, daß von 11 Pseudodiphtheriekulturen 9 nach 20-stündigem Verweilen im Brutschrank Körnchen aufwiesen, und 2 Kulturen nach 12-stündigem Verweilen im Thermostaten solche Körnchen erkennen ließen, so daß die Kulturen mit echten Diphtheriebacillenkulturen verwechselt werden konnten. Infolgedessen rät Ficker, nicht auf die Neissersche Methode zu verzichten. Im übrigen verdient die Fickersche Arbeit alle Beachtung, da der Autor in ihr bis zu einem gewissen Grade die Natur der Diphtheriebacillenkörnung klarlegt. Leider gestattet es uns der Raum nicht, hier auf diese wichtige und bis jetzt noch nicht völlig aufgeklärte Frage näher einzugehen.

Methode von Peck.

Zu Beginn des Jahres 1903 veröffentlichte Wicliff Peck sein Verfahren, welches darin besteht, daß auf das Präparat 3—4 Sekunden lang mit Löfflers Methylenblau eingewirkt, das Präparat abgespült und für 1/2 Minute eine 2-prom. Vesuvinlösung aufgegossen wird (Löffler-Neissersche Methode).

Dieses Verfahren soll auch in Ausstrichpräparaten aus Belägen gute Resultate liefern und auch dort befriedigende Ergebnisse aufweisen, wo die Neissersche Methode versagt. Wir jedoch konnten bei unseren Versuchen nicht konstatieren, daß die Pecksche Methode vor der Neisserschen irgend welche Vorzüge besäße.

Neue Methode von Neisser.

Mitte 1903 empfahl Max Neisser selbst eine Modifikation seines früher von ihm veröffentlichten Verfahrens.

a)	Methylenblau	1,0
	Alkohol	20,0
	Aq. destill.	100,0
	Acid. acetic. glac.	50,0
b)	Kristallviolett (Höchst)	1,0
	Alkohol	10,0
	Aq. destill.	300,0

Von der Lösung a werden 2 Teile, von der Lösung b ein Teil genommen und damit eine Sekunde lang gefärbt, sodann das Präparat mit Wasser abgespült und für 3 Sekunden eine Chrysoidinlösung (1,0 Chrysoidin auf 300 ccm heißes Wasser) auf dasselbe gegossen; hierauf abermals Wasserspülung. Mit dieser Methode erzielten wir mitunter hervorragend deutliche Bilder, in der Mehrzahl der Fälle jedoch war sie minder leistungsfähig als die alte Neisser-Färbung.

Methode von Ljubinsky.

Vor einigen Monaten, als unsere Arbeit bereits im Gange war, demonstrierte uns Dr. Ljubinsky (Kiew) seine noch unveröffentlichte Methode und gestattete uns in liebenswürdigster Weise, uns ihrer zu bedienen. Sie besteht darin, daß auf das fixierte Präparat für 1/2—2 Min. folgende Lösung appliziert wird:

Pyoktanin „Merck“	0,25
Acid. acetic. (5-proz.)	100,0

Abspülen mit einfachem Wasser und hierauf Nachfärbung mit einer 1-prom. Lösung von Vesuvin (1/2 Min.).

Diese Methode lieferte uns vorzügliche Resultate. Die schwarzblau gefärbten Körnchen der Diphtheriebacillen sind voluminös und in fast sämtlichen Stäbchen zu sehen. Die Konturen der dunkelviolett gefärbten Stäbchen sind scharf umgrenzt. Offenbar ist das Pyoktanin das beste Kernfärbungsmittel.

Da wir nach einer noch größeren Deutlichkeit des mikroskopischen Bildes strebten, so modifizierten wir dieses Verfahren in der Weise, daß wir in dem ersten Teil der Vorschrift die Ljubinskysche Farblösung beließen, in dem zweiten Teile hingegen das Vesuvin durch das Chrysoidin substituierten, nur daß wir eine dreimal so starke Lösung nahmen. Die Deutlichkeit des Bildes gewann dadurch noch um ein Bedeutendes, und gegenwärtig wird in unserem Laboratorium nur diese Methode angewendet.

Wenn wir zum Schluß sämtliche bis jetzt empfohlene Methoden miteinander vergleichen, so müssen wir konstatieren, daß als die besten von ihnen uns die Methoden von Falières und Ljubinsky erschienen sind. Bei der Wahl dieser oder jener geeigneten Methode spielt der Subjektivismus eine sehr große Rolle. Uns z. B. schienen die mit dem Ljubinskyschen Verfahren erzielten Bilder die vortrefflichsten zu sein. Bei dieser Färbungsmethode sind die Diphtheriebacillen so scharf konturiert und so sehr typisch, daß sie sofort in die Augen fallen und sie sogar ein wenig geübter Untersucher von den übrigen im Ausstrichpräparat enthaltenen Mikroorganismen leicht unterscheiden kann.

Zum Schluß ist es uns eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. J. Bronstein für seine Anregung zu dieser Arbeit und für seine freundliche Anleitung bei der Ausführung derselben unseren besten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Neisser, Max, Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. p. 443.)
2) Ernst, Ueber Kern- und Sporenbildung in Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. 1889. p. 428.)
3) Bronstein, Ueber die bakterioskopische Diagnose der Diphtherie. (1899.)
4) De Nigris, Sui metodi per la ricerca dei granuli polari nell bacillo della difteria. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 15. Referate.)
5) Erbrich, Neuere Untersuchungsmethoden der Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902. No. 3. p. 83.)
6) Peck, Wicliff, A new differential Stain for the Klebs-Löffler-Bacillus of Diphtheria. (The Lancet. 1903, 10./I. p. 92.)
7) Golowkoff, J. A. I., Ueber die Differentialdiagnose der Diphtheriebacillen und der Pseudodyphteriebacillen nach der Methode von Neisser. (Wojenno-medizinsky Shurnal. 1899. No. 1. p. 187.)
8) Piorkowsky, Ueber eine Modifikation der Diphtheriebacillenfärbung. (Sitzung der Berliner med. Gesellschaft vom 19. Dez. 1900.)
9) Pitfield, I. On the Diagnosis of Diphtheria. II. A double Stain for the Bacillus of Diphtheria. (The University of Pennsylvania medical Bulletin. September 1900. p. 177.)
10) Kitai, Ueber die Differentialfärbung der Diphtheriebacillen. (Jeschenedelnik. 1900. No. 42. p. 177.)
11) De Rovaart, Zur Neisserschen Färbung der Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. No. 13. p. 575.)
12) Ficker, Martin, Eine neue Methode der Färbung von Bakterienkörnchen. (Hyg. Rundschau. 1902. 12. Jahrgang. p. 1131.)
13) Schauffler, W. G., A new Stain for Diphtheria Bacilli. (Medical Record. 1902. 6. Dezbr.) — Zur Färbung von Diphtheriebacillen und Choleravibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. p. 212.)
14) Falières, E., Des granulations polaires du bacille diphtherique. (Dissertation).
15) Bosse, Bruno, Der Deyckesche Pepsin-Trypsin-Agar, ein Nährboden für Diphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. 1903. No. 6.)
16) Coles, The British Medical Journal, 1899. (Zit. im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. p. 827.)
17) Sahli, Methoden der klinischen Diagnostik.
18) Predteczensky, Lehrbuch der klinischen Mikroskopie (russisch).
19) Schabad, Die klinische Bakteriologie der Diphtherie.
20) Neisser, M., Hygienische Rundschau, 13. Jahrgang. 1903. No. 14.

Nachdruck verboten.

Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchungen.

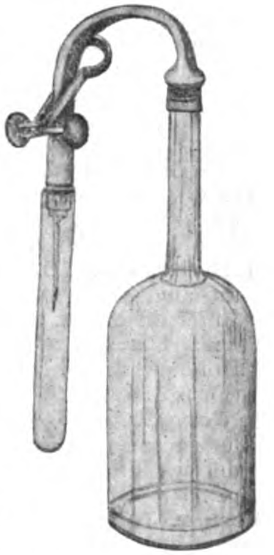
[Aus der Antirinderpeststation Surnabat.]

Von **E. Dschunkowsky** und **S. Luhs.**

Mit 1 Figur.

Die Notwendigkeit einer vielseitigen Untersuchung sterilen undefibrinierten Blutes zur Feststellung von Parasiten hat uns veranlaßt, die einfachste Verfahrungsart zur Gewinnung des betreffenden Materials zu suchen.

Ein Apparat zur sterilen Blutentnahme ist schon vor einiger Zeit von einem von uns beschrieben [1]), man kann ihn jedoch nur bei Gewinnung großer Mengen defibrinierten Blutes verwenden, welches dann entweder zur Hyperimmunisation oder zu einfacher Vaccination gebraucht wird. Zur Untersuchung des Blutes von einer größeren Anzahl von Tieren sind diese Apparate infolge ihrer Größe jedoch unbequem, außerdem werden bei der Defibrinierung des Blutes solche zarte Parasiten, wie z. B. Trypanosomen, welche im Blutplasma leben, mit dem geronnenen Fibrin entfernt, und das defibrinierte Blut erscheint in diesem Fall steril, trotzdem es eine große Anzahl Parasiten enthalten hat.



Wir nehmen eine gewöhnliche Ampulle (sie sind verschiedener Größe, von 3—100 ccm Inhalt) von der Art, wie sie in einigen Laboratorien zum Ausfüllen von Heilseris verwendet werden. Solche Ampullen, mit ausgezogenem, langem Halse sind sehr bequem zum Aufbewahren steril gewonnenen Serums, da die Glashälse sehr gut zu verschmelzen sind, sogar auf einer gewöhnlichen Spirituslampe.

Auf den Hals ziehen wir (siehe unsere Zeichnung) ein gleich weites, ca. 10 cm langes Gummirohr.

Vorher wird die Ampulle mit einer 5-proz. zitronsauren Natronlösung bis zu $^1/_{10}$ des Volumens gefüllt. Natrium citricum hindert, wie bekannt, das Gerinnen des Blutes, wobei sich alle seine morphologischen Bestandteile, sowie etwaige Parasiten sehr gut erhalten. Auf das Gummirohr wird ein Quetschhahn gesetzt und das offene Ende wird mit einer großen Spritze von 50—100 ccm verbunden. Durch einige Bewegungen des Kolbens entfernen wir aus der Ampulle einen bedeutenden Teil der Luft, so daß das Gummirohr flach wird. Jetzt entfernen wir die Spritze und verbinden das Rohr mit einer Hohlnadel. Die Nadel setzen wir in ein Probierglas von entsprechender Größe. In solcher Gestalt wird der Apparat wie gewöhnlich im Autoklaven sterilisiert.

Die Benutzung des Apparates ist sehr einfach. Die Nadel wird aus dem Probierglas in die Vene gesetzt (Vena jugularis), wobei das Glas entweder mit den unbeschäftigten Fingern der rechten Hand gehalten wird oder frei auf derselben steht. Nach der Einführung der Nadel in die Vene wird der Quetschhahn geöffnet, das Blut fließt schnell in das Glas und füllt es in einigen Sekunden. Dann wird der Quetschhahn geschlossen und die Nadel wieder in das Probierglas gesteckt. Ist es wünschenswert, so kann man nach der Füllung des Ampullenhalses denselben verschmelzen.

---

[1]) Dschunkowsky, E., Apparat zur sterilen Defibrinierung des Blutes. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1904.)

Solche kleine, sehr portative Apparate können einen großen Dienst bei speziellen Expeditionen erweisen, wenn man das Blut nicht an Ort und Stelle genau untersuchen kann. Dank ihrer geringen Größe, kann man eine genügende Anzahl der Ampullen mit sich führen, ohne sein Gepäck zu belasten.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bartel, Julius und **Stein, Robert**, Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen. (Forts.), p. 264.

Blumenthal, J. M. und **Lipskerow, M.**, Vergleichende Bewertung der differentiellen Methoden zur Färbung des Diphtheriebacillus, p. 359.

Breit, Zur Tuberkulosefrage der Kuhpockenlymphe, p. 271.

Bruini, G., Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. (Schluß.), p. 298.

Dschunkowsky, E. und **Luhs, S.**, Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchungen, p. 367.

Fermi, Claudio und **Bassu, E.**, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. (Forts.), p. 241.

de Jong, D. A., Die Steigerung der Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus zu der des Rindertuberkelbacillus. (Schluß.), p. 254.

Kerner, Julius, Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken. (Schluß.), p. 329.

Landsteiner, Karl, Ueber die Unterscheidung von Fermenten mit Hilfe von Serumreaktionen, p. 344.

Löwit, M., Berichtigung, p. 328.

Lüdke, H., Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie, p. 289.

—.—, Zur Spezifität der Antikörper. (Forts.), p. 320.

Maldague, L., Bacilles d'Eberth dans un kyste de l'ovaire après la guérison d'une fièvre typhoïde, p. 249.

Marschall, F., Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose, p. 347.

Ottolenghi, D. und **Mori, N.**, Die Wirkung des Aethyläthers auf die hämolytischen und bakteriziden Sera, p. 338.

Pfaff, Franz, Eine infektiöse Erkrankung der Kanarienvögel, p. 275.

Speiser, P., Eine zweite Rattenlaus aus Abessinien, p. 318.

Stebbins jr., **James**, On the occurrence of a large sized parasite of the Karyolysus order, in the blood of Rana clamata, p. 315.

Südmersen, H. J., Ueber eine infektiöse Pneumonie der Kaninchen und deren Bekämpfung mit Antiserum, p. 343.

Tiberti, N., Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern, p. 281.

Ziemann, Hans, Beitrag zur Trypanosomenfrage, p. 307.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 4.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über Anaërobiose.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität zu Sassari.]

II. Mitteilung.

Von Prof. **Claudio Fermi,** unter Mitwirkung von **E. Bassu,** stud.

Mit 13 Figuren.

(Schluß.)

Entwickelung von auf Strichkulturen kultivierten Anaëroben.

Da die neuen Kulturmethoden einmal festgestellt waren, blieb uns nichts anderes mehr übrig, als zu sehen, wie die genannten Anaëroben sich in denselben verhielten. Da wir außerdem zu unserem Studium Kulturen auf Oberflächen brauchten, wie jene, in denen sich besonders die Wirkung der reduzierenden Mittel auf die Mikroorganismen zeigt, so haben wir uns mit dieser Frage beschäftigen müssen. Die täglichen Beobachtungen hatten uns gezeigt, daß die Anaëroben sich selbst unter den besten Bedingungen der Anaërobiose nur schwer auf der Oberfläche entwickeln. Dies ließ uns vermuten, daß die Anaëroben außer der Abwesenheit des Sauerstoffs auch in das Substrat gesenkt und weit von der freien Oberfläche und somit unter einem hohen Druck sich befinden sollen.

Diese Hypothese, welche übrigens dem entspricht, was sich im Tiere zeigt, in welchem die Anaëroben sich mit Vorliebe in die Tiefe der Gewebe versenken, mußte besonders für uns sehr wertvoll werden.

* * *

Versuch. Die Technik dieses Versuchs war folgende:

Mittels Paraffin befestigten wir an der Oberfläche des Deckels eines Kristallisators (Fig. 13) den Boden einer Petrischen Schale, welche, auf diese Weise zubereitet, natürlich umgekehrt in den Kristallisator kam, wenn dieser zugedeckt wurde.

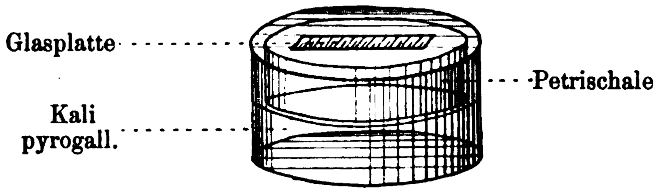


Fig. 13.

Durch Aufstreichen impften wir wie gewöhnlich den ganzen Durchmesser der Schale, nur den mittleren Teil der Impflinie bedeckten wir mit einer kleinen Glasscheibe *a*, die mit Paraffin befestigt wurde, während wir an beiden Enden der Scheibe die Impfungen frei an der Oberfläche ließen. Wir kehrten den Kulturapparat im Kristallisator, in dem sich Kali pyrog. befand, um, bis derselbe den freien Rand der Kapsel berührte, und brachten ihn in den Thermostaten.

Mit diesem Versuche erzielten wir, daß die Mikroorganismen einer und derselben Impfung sich gleichzeitig unter ein und derselben anaërobischen Bedingung und unter verschiedenen Druckverhältnissen befanden.

Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle sichtbar:

	Entwickelung auf freier Oberfläche Versuch					Entwickelg. unter der Glasplatte Versuch				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
B. tetani	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
B. anthracis symptomatici	+	+	—	+	—	+	—	—	+	—
B. oedemat. maligni	+	+	+	—	—	+	—	+	—	—
Käseanaëroben No. 1	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+
„ „ 2	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—
„ „ 3	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—
Faecesanaëroben No. 1	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—
„ „ 2	—	—	+	+	+	—	—	+	—	—
Anaëroben aus faulen Flutgräben No. 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ „ „ „ „ 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Resultat. Die Entwickelung zeigte unter der Glasplatte wie auf der freien Oberfläche keinen großen Unterschied.

Auch aus diesem Versuche könnte man sehen, daß Stichkulturen stets üppiger waren als Strichkulturen.

Resultat: Die im allgemeinen spärliche Entwickelung der Strichkultur war ungefähr gleich sowohl unter der Glasscheibe als auch außerhalb derselben. Auch bei diesem Versuche bestätigte sich die Tatsache, daß die Entwickelung sich besonders bei den Impfungen entweder durch Aussäen vor dem Erstarren des Agars oder bei Stichkulturen zwischen Glas und Agar zeigte, spärlich und mangelhaft aber in jenen bei Strichkulturen.

Entwickelung der Anaëroben

Mikroorganismen	I. Methode						II. Methode	
		Kontrollversuche						Kontr.-Versuch
	Methode	Ungekochter Agar	Gekochter Agar	Agar 2,5 ‰ Kali pyrog. enthaltend	Gekochter Agar und Paraffinschicht	Agarkultur. in Reagenzgläsern in Kali pyrog. umgekehrt	Methode	Kapseln in Kali pyrog. umgekehrt
B. tetani	—	+ +	+		+	+	— —	+ +
B. anthracis symptomatici	— —	+ +	+		+	+	— —	+ +
B. oedemat. maligni	—	+	+		+	+	— —	+ +
Anaëroben aus Käse No. 1	—	+	+		+	+	— —	+ +
„ „ „ „ 2	0	+ +	+		+	— —	— —	+ +
„ „ „ „ 3	—	+ +	+		+	+	—	+ +
Anaëroben aus faulen Flüssigkeit. No. 1	— —	+ +	+		+	—	— —	+
„ „ „ „ „ 2	—	+ +	+		+	—	— —	+
„ „ „ „ „ 3	—	+ +	+		+	+	—	+
Anaëroben aus Faeces No. 1	— —	+ +	+		+	+	—	+
„ „ „ „ 2	—	+ +	+		+	+	—	+
„ „ „ „ 3	—	+ +	+		+	+	—	+
Anaëroben aus Boden No. 1	—	+ +	+		+	+	— —	+
„ „ „ „ 2	—	+ +	+		+	+	—	+

Versuche mit neuen, oben beschriebenen Kulturmethoden.

Die hier mitgeteilten Versuche hatten uns in die Lage versetzt, sehr erfolgreiche Methoden bei der Zubereitung anaërobischer Kulturen zur Verfügung zu haben. Wir benutzten dieselben nun, um die uns gesetzten Probleme zu studieren.

Die Technik der einzelnen Methoden befolgend, impften wir den Tetanusbacillus, den Bacillus des malignen Oedems, Bac. anthracis symptomatici sowie andere aus Käse, aus fauligen Flüssigkeiten, aus Kot von Säuglingen isolierte Anaëroben und einige andere aus dem Boden, ohne jedoch die Kontrollproben zu vergessen. Letztere bestanden teilweise in gewöhnlichen anaëroben Kulturen derselben Mikroorganismen, bei welchen Kulturen O_2, wie wir bewiesen haben, stets zurückbleibt, teilweise in gleichen von uns angewandten Kulturen, zu welchen man jedoch die Luft dringen ließ.

Wir werden die Ergebnisse in folgender Tabelle (p. 370 u. 371) sammeln.

Resultat: Aus den Tabellen geht hervor:

1) Daß die Anaëroben sich in Gegenwart des vorhandenen freien Sauerstoffs entwickeln.

2) Daß ihre Entwickelung mit dem Verschwinden des letzteren nachläßt.

* * *

Sauerstoffbindende Wirkung des Kali pyrogallicum im Substrat.

In der Voraussetzung, daß die Mikroorganismen sich der geringsten Spuren des trotz der zur Entfernung desselben angewandten Methoden

nach den neuen Kulturmethoden.

V. Methode (Chromchlorür)								VI. Methode (Phosphor)				VII. Methode (Blastomycet.)		
Methoden						Kontrollversuche		Methoden		Kontrollversuche		Methoden	Kontrollversuche	
								No. 1	No. 2					
No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	Kapsel umgekehrt in Chromchlorür	Unvollkommene Deckung der Kultur	Phosphor ungezündet	Phosphor gezündet	Phosphor in Reagenzgläsern	Phosphor gezündet bei unvollkommener Deckung der Kultur	Kulturen in Kapsel — kombinierte Methode	Kulturen in Eprouvette mit getöteten Blastomyceten	Kulturen in Eprouvette ohne Blastomyceten
—	—	+	—	—	—	+	+ +	+	—	+	+	—	+	+ +
—	+	—	+	—	—	+	+ +	+	—	+	+	—	+	+ +
+	—	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +
+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+ +
—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	+	+ +
—	—	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	—	+ +
+	+	—	—	—	—	+	+ +	+	—	+	+	—	—	+ +
—	+	—	+	—	—	+	+ +	+	—	+	+	—	+	+ +
—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	+ +
—	+	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +
—	—	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +
—	—	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +
—	—	—	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +
—	—	+	—	—	—	+	+ +	—	—	+	+	—	+	+ +

im Substrat zurückgebliebenen freien oder im Augenblick der Impfung übertragenen Sauerstoffs bedienen können, kamen wir auf den Gedanken, dem Substrat Kali pyrog. beizumischen.

Doch war es vor allem notwendig, festzustellen, in welchen Proportionen letzteres noch unschädlich für die Mikroorganismen war.

Wir studierten daher zuerst einzeln die entwickelungshemmende Wirkung des Ac. pyrog. und des Aetzkali in verschiedenen Proportionen und dann des Kali pyrogallicum.

1) In welchen Verhältnissen hemmt Pyrogallussäure die Entwickelung der Mikroorganismen?

Um festzustellen, in welchen Proportionen die dem Substrat beigefügte Pyrogallussäure nicht antiseptisch wirkt, bereiteten wir ein Substrat mit $^1/_2$—1—$2^1/_2$—5 Promill. und 1 Proz. Ac. pyrog. und impften verschiedene Mikroorganismen sowohl in Kapseln durch Aufstreichung als auch in Röhren durch Stich.

Resultat: Die Pyrogallussäure stört selbst im Verhältnis von $2^1/_2$ Promille gewöhnlich die Entwickelung nicht.

2) In welchen Verhältnissen hemmt Kalihydrat die Entwickelung der Mikroorganismen?

Dieser Versuch ist in Bezug auf die Technik dem vorhergehenden gleich. Der Zweck desselben war, die den Mikroorganismen unter den gegebenen Bedingungen erträglichen Proportionen von Kalihydrat festzustellen.

Resultat: Das Kalihydrat beginnt in den Proportionen von 5 Promille die Entwickelung der Mikroorganismen zu verhindern.

3) In welchen Verhältnissen hemmt Natriumkarbonat die Entwickelung der Mikroorganismen?

Wir machten mit diesem Stoffe, wie mit den beiden vorigen, Versuche und erhielten folgendes

Resultat: Das Natriumkarbonat hindert nicht einmal im Verhältnis von 1 Proz. die Entwickelung der beobachteten Mikroorganismen.

4) In welchen Verhältnissen hemmt Kali pyrogallicum die Entwickelung der Mikroben?

Nachdem wir die hemmende Wirkung von Ac. pyrog. und Aetzkali festgestellt hatten, versuchten wir in derselben Weise die hemmende Wirkung des Kali pyrogallicum festzustellen.

Resultat: Das Kali pyrogallicum stört in den Verhältnissen von $2^1/_2$ Promille die Entwickelung nicht.

Die Ergebnisse dieser letzten Reihe von Versuchen sind in folgender Tabelle (p. 373) angegeben

Resultat: Auf Kulturen nach den Methoden 1, 2, 3, 4 bei Zufügung von Kali pyrogallicum fehlte, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, die Entwickelung oft vollständig.

Da das dem Substrat beigemischte $2^1/_2$-promill. Kali pyrog. die Entwickelung der zu studierenden Anaëroben noch erlaubt, wiederholten wir die Methoden 1, 2, 3, 4 bei Zufügung von Kali pyrogallicum zu dem Kulturboden (p. 373).

Resultat: Die mit dieser Methode erhaltene vollkommene Anaërobiose hemmt, anstatt sie zu begünstigen, die Entwickelung der echten Anaëroben.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Wirkung des Kali pyrogallicum im Substrat auf die Mikroorganismen.

Mikroorganismen	Pyrogallussäure					KOH					Natrium carbonat.					Kali pyrog.				
	0,5 ‰	1 ‰	2,5 ‰	5 ‰	1 %	0,5 ‰	1 ‰	2,5 ‰	5 ‰	1 %	0,5 ‰	1 ‰	2,5 ‰	5 ‰	1 %	0,5 ‰	1 ‰	2,5 ‰	5 ‰	1 %
Mischkulturen aus dem Boden	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	0
Staphyl. pyog. aureus	+ +	+ +	+	0	0	+	+ +	+	+ +	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	0
„ „ albus	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0
„ „ citreus	+	+	—	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	0
Bac. prodigiosus	+ +	+ +	+ +	—	0	+	+	+ +	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—	0	0
„ indicus	+	+	—	0	0	+	+	—	—	0	+	+	+	+	—	+	+	—	—	0
„ acidi lactici	+	+	—	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+		+	+	+	—	0
„ rhinoscleromat.	+	+	+	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—	0
„ subtilis	+	+	—	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+		+	+	—	—	
„ megatherium	+					+	+	+	—	0	+	+	+	+		+	+	+	—	—
„ mycoides	+	+	—?	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
„ p. vulgaris	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	—		+	+	—	—	—
„ cyanogenus	+	+	—	—	0	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„ coli communis	+	+	0	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—
„ typhi	+	+	+ ?	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Vibrio cholerae	+	+	+	0	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ Finkler et Prior	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	—		+	+	+	—	—
„ Metschnikoff	+	+	—	0	0	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—
„ Danubicus	+	+	+	0	0	+	+	+	+	—	+	+	+			+	+	—	0	0
„ Dunbar	+	—	—	0	0	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
Blastomycetes A	+ +	+ +	+ +	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+		+	+	+	—	—
„ B	+ +	+ +	+ +	—	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
„ D	+ +	+ +	+ +	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—
Stichkulturen in Eprouvetten:																				
B. oedemat. maligni	+	+	+	—	0	+	+	+	—	0	+	+	—	—	—	+	+	+	0	0
„ anthracis symptomatici	+	+	+	—	0	+	+	+	—	0	+	+	—	—	—	+	+	+	0	0
„ tetani	+	+	+	+	0	+	+	—	—	0	+	+	—	—	—	+	+	+	0	0

Die neuen Methoden bei Zufügung von Kali pyrogallicum im Substrat.

Mikroorganismen	Agar 2,5 ‰ Kali pyrog. enthalt.	Methoden									
		ohne Kali pyrog.	mit Kali pyrog.	ohne Kali pyrog.	mit Kali pyrog.	ohne Kali pyrog.	mit Kali pyrog.	ohne Kali pyrog.	mit Kali pyrog.	ohne Kali pyrog.	mit Kali pyrog.
B. tetani	+ +	—	—	— —	0	—	0	—	0	—	0
„ anthracis symptomatici	+ +	— —	0 ?	— —	0	—	0	—	0	—	0
„ oedemat. maligni	+ +	— —	—	— —	0	—	0	—	0	—	0
Anaëroben aus Käse No. 1	+ +	—	— —	— —	0	—	— ?	—	0	—	0
„ „ „ „ 2	+ +	0	0	— —	0	—	0	—	0	—	0
„ „ „ „ 3	+ +	—	— —	—	0	—	0	—	0	—	0
Anaëroben aus faulen Flüssigkeiten No. 1	+ +	— —	— —	— —	0	—	0	—	0	—	0
Desgl. „ 2	+ +	—	— —	— —	0	—	0	—	0	—	0
Desgl. „ 3	+ +	—	— —	—	0 ?	—	0	—	0	—	0
Anaëroben aus Faeces No. 1	+ +	— —	—	— —	0	—	0	—	0	—	0
„ „ „ „ 2	+ +	—	— —	— —	0	—	0	—	0	—	0
„ „ „ „ 3	+ +	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
Anaëroben aus Boden No. 1	+ +	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
„ „ „ „ 2	+ +	—	0	—	0 ?	—	0	—	0	—	0

Allgemeiner Ueberblick auf die erhaltenen Resultate.

1) Aus der kritisch-experimentellen Arbeit ergibt sich, daß in den nach den alten bekannten Methoden angestellten Anaërobenkulturen stets freier Sauerstoff vorhanden ist.

2) Wir haben dagegen verschiedene neue Anaërobiosenmethoden beschrieben, in welchen O_2 mit den gewöhnlichen Mitteln nicht nachweisbar ist.

3) Man erhält eine vollständigere Anaërobiose, wenn man den Kultursauerstoff mittels einer reduzierenden Substanz aufsaugen läßt, als wenn man die Kulturatmosphäre durch ein anderes Gas ersetzt.

4) Mittels Aufkochens entfernt man leichter den Sauerstoff aus der Gelatine als aus der Fleischbrühe, und noch viel leichter aus dem Agar.

5) Die Substanzen, die am geeignetsten sind, das Substrat während des Abkochens gegen das Eindringen von O_2 zu schützen, sind Paraffin, Vaselin oder Paraffinöl — Vaselin steht etwas den zwei anderen nach.

6) Betreffs der in Kali pyrog. umgekehrten Kulturen sind die Strichkulturen in Kapseln den Stichkulturen in Röhren vorzuziehen.

7) Das durch die Mischung von 10 g Aetzkali, 10 g Pyrogallussäure und 100 g Wasser erhaltene Kali pyrog. ist am aktivsten, denn wir erzielten mit demselben das Maximum der Absorption in 2 Stunden, während wir bei anderer Zusammensetzung dasselbe nach 48 Stunden erlangten.

8) Das sublimierte Chromchlorür ist ohne Zweifel aktiver und weniger schädlich als das nach der Recouraschen Methode zubereitete Chromchlorür.

9) Das sublimierte Chromchlorür ist schon sehr wirksam in den Verhältnissen von 0,4 : 30. In 24 Stunden saugt es den ganzen Sauerstoff in der Atmosphäre eines gewöhnlichen, von uns gebrauchten Gefäßes auf.

10) Der Phosphor hindert in Hinsicht auf unsere Versuchsbedingungen, abgesehen von seiner reduzierenden Wirkung, nicht die Entwickelung der Keime.

11) Die Anaëroben entwickeln sich sehr gut sowohl in Symbiose mit den lebenden Blastomyceten als auch in toten Kulturen und Produkten des Stoffwechsels derselben.

12) Die Blastomyceten besitzen eine stark reduzierende Wirkung, die jener vieler chemischen Substanzen nicht nachsteht.

13) Die Anaëroben entwickeln sich besser in Stich- als in Strichkulturen.

14) Sämtliche bekannten absoluten Anaëroben entwickeln sich in Gegenwart des freien Sauerstoffs und sind somit im engeren Sinne des Wortes keine obligaten Anaërobien.

15) Die Entwickelung der Anaëroben ist kräftiger, wenn sich im Substrat Spuren von freiem Sauerstoff vorfinden, als wenn dieselben fast verschwunden sind.

16) Die Pyrogallussäure im Verhältnis von $2^1/_2$ Promille stört gewöhnlich die Entwickelung der von uns studierten Anaëroben nicht.

17) Kalihydrat ertragen die von uns studierten Mikroorganismen auch im Verhältnis von 5 Promille, das kohlensaure Natron zu 1 Proz.

18) Die absoluten Anaëroben entwickeln sich sehr gut in einem mit $2^1/_2$ Promille Kali pyrog. versetzten Nährboden.

19) Folglich können wir den Schluß ziehen, daß es keine wirklich absoluten Anaëroben gibt, da sich alle in Gegenwart von Sauerstoff entwickeln. Wir haben in der Tat im ersten Teile unserer Arbeit gezeigt, daß in allen in der Bakteriologie bekannten Anaërobenkulturmethoden sich freier Sauerstoff befindet, und im zweiten Teile, daß die Entwickelung der Anaëroben immer mehr nachläßt, je mehr die Spuren des freien Sauerstoffs aus der Kultur entfernt werden.

20) Daß es auch keine wirklich fakultativen Anaëroben gibt, insofern, daß keines derselben sich auf strengen Anaërobenkulturen nach den besten von uns beschriebenen Methoden entwickelt.

* * *

Schlußbetrachtungen.

In unserer Arbeit haben wir bewiesen, daß die bisherige Enteilung in Aëroben und obligate und fakultative Anaëroben nicht vollständig richtig ist. Wir halten es jedoch für angemessen, uns noch mit dieser merkwürdigen Gruppe von Mikroorganismen, die bisher als vom allgemeinen Gesetze der Biologie ausgeschlossen galten, jetzt aber, unserer Meinung nach, sich demselben anschließen, zu beschäftigen.

Gibt es in der Natur den Fall eines vollständigen Mangels des Sauerstoffs, dieses so allgemein verbreiteten Gases?

Untersuchen wir ein wenig die natürlichen Lebensbedingungen der Anaëroben. Wir finden dieselben sowohl in den lebenden Organismen als auch in der äußeren Welt.

In den Infektionen, z. B. beim Tetanus, dringen sie ein mittels tiefer Wunden, besonders Stichwunden, wo der Sauerstoff der Luft nicht hingelangen kann, und können sich infolgedessen ungestört entwickeln. Ebenso finden wir sie in den Zersetzungen der Flüssigkeiten, wo ihr Leben durch die Symbiose mit anderen Arten von aëroben Mikroorganismen begünstigt wird.

Die Tatsache aber, daß dies der Entwickelung der sogenannten Anaëroben günstige Bedingungen sind, sagt uns nicht, daß sie sich ohne den Sauerstoff entwickeln; man müßte beweisen, daß dieses Gas an den Lieblingsaufenthaltsorten dieser Gruppe von Mikroorganismen absolut fehlt.

Wenn Pasteur die Tatsache hervorhebt, daß an der Oberfläche einer stinkenden Flüssigkeit sich ein Häutchen von sich entwickelnden anaëroben Mikroorganismen bildet, welche den Sauerstoff der Flüssigkeit verzehren, das fernere Eindringen dieses Gases verhindern und auf diese Weise erlauben, daß in der Tiefe die Anaëroben ihr Werk beginnen, so beweist dies noch nicht den vollständigen Mangel des Sauerstoffs am Entwickelungsorte der Anaëroben; und wenn Bienstock¹) mittels genauer Versuche mit reinen Kulturen diese Tatsache behauptet, so beweist er die wirkliche Existenz des anaëroben Lebens nicht; denn er glaubte, nicht beweisen zu müssen, ob in der Entwickelungsflüssigkeit Sauerstoff vorhanden war. Dies wäre notwendig gewesen, um den Versuch erschöpfend durchzuführen.

Kedrowski²) und Scholtz³) geben uns in diesem Punkte recht, denn sie sahen, indem sie bewiesen, daß auch die strikten Anaëroben

---

1) Bienstock, Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. Heft 5. p. 335.
2) Kedrowski, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895.
3) Scholtz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 132.

sich in Flüssigkeiten und in offenen Gefäßen ohne Ausschluß des Sauerstoffs kultivieren lassen, wenn sie nur aërobische Saprophyten mit ihnen zusammen wachsen ließen, daß die Luft die Entwickelung der Anaëroben nicht verhindert. Diese wird nur durch einen starken Sauerstoffstrom (5 l stündlich in 5—10 ccm Nährflüssigkeit) gehemmt.

Diese Versuche zeigen uns, daß, wenn die Anaëroben natürlicherweise des Zusamenlebens mit den Aëroben bedürfen, um sich in faulen Flüssigkeiten entwickeln zu können, die vollständige Abwesenheit des Sauerstoffs nicht absolut notwendig ist.

Dies haben übrigens Kitt[1]) für den B. anthracis symptomatici, Braatz[2]), Belfanti und Pescarolo[3]), Sanchez Toledo und Veillon[4]), Vaillard und Vincent[5]), Grisconi[6]), Ferran, Sanfelice, Valagussa[7]) und Tarozzi[7]) in Bezug auf Tetanusbacillus, und Beijerinck[8]) in Bezug auf das Granulobacterium gezeigt.

Aus dem, was wir gesagt haben, geht hervor, daß, wie für die verschiedenen Arten der obligaten Aëroben, der zur Entwickelung notwendige Spannungsgrad des freien Sauerstoffs verschieden ist, wie dies Engelmann[9]) und Beijerinck[10]) beweisen, so auch für die Anaëroben ein Optimum der Spannung besteht, in welchem sie sich vorzugsweise entwickeln, wie dies in Bezug auf die Temperatur, das Licht, die Konzentration der Nährsubstrate, die Menge der Salze, des Wassers u. s. w. der Fall ist. Auch für diese besteht in der Tat, wie wir in unseren Versuchen gesehen haben, eine Partialspannung des Luftsauerstoffs, über welche hinaus eine Entwickelung nicht mehr möglich ist.

Es ist dies dieselbe Tatsache, welche die beiden genannten Autoren in Bezug auf die obligaten Aëroben bemerkten, welche, mikroskopisch in flüssigen Kulturen gesehen oder mit dem Mikroskop im hängenden Tropfen betrachtet, sich je nach dem größeren oder geringeren Bedürfnisse von Sauerstoff und im Verhältnis zu der Entfernung von der Quelle des letzteren verhielten, indem sie geometrische Figuren annahmen, stets den Punkt des Optimums der Sauerstoffspannung innehaltend; dieselbe Tatsache, sage ich, zeigt sich bei den Anaëroben. Auch diese suchen den Punkt des Optimums der Spannung des Sauerstoffs und entwickeln sich dort mit Vorliebe, wie dies Sanfelice bemerkte und wie dies beim Vergleichen der peripheren Kolonieen mit den zentralen bei den bedeckten Scheibenkulturen leicht zu sehen ist.

Die Mikroorganismen verhalten sich also dem Sauerstoff gegenüber verschiedentlich, je nach ihrem Optimum der teilweisen Spannung in Bezug auf dieses Gas.

Sinkt das Verhältnis des Sauerstoffs in der Tat unter das Optimum der Spannung, so gewahrt man in gewissen Mikroorganismen ein Nachlassen gewisser Funktionen (Pigmentbewegung, Gärung u. s. w.),

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 168.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 168.

3) Giorn. della r. accad. med. di Torino. Turin 1898. Mai.

4) Arch. de méd. expér. 1890. p. 709.

5) Ann. d'igiene sperim. della r. univ. di Roma. Vol. VIII. p. 406.

6) Ann. d'igiene sperim. della r. univ. di Roma. Vol. VIII. p. 406.

7) Ann. d'igiene sperim. della r. univ. di Roma. Vol. VIII. p. 406. — Atti della R. accademia dei fisicritici Serie IV. Vol. XV.

8) Arch. Néerland. T. II. Sér. 2. 1899. p. 397.

9) Engelmann, Botan. Ztg. 1881. p. 441; 1882. p. 338; 1888. p. 626.

10) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 837.

und wenn man eine Steigerung der Spannung hat, so kann die Entwickelung gänzlich fehlen, wie Sanfelice[1]) in Bezug auf den Proteus vulgaris, den Bacillus subtilis indes; Obici[2]) in Hinsicht auf den Tuberkelbacillus; Engelmann[3]) in Bezug auf die Spirillen und Chudiakow[4]) in Hinsicht auf den Bac. subtilis bemerkten.

Andere Anaëroben entwickeln sich hingegen mit Vorliebe nur in Spuren von freiem Sauerstoff. Unsere Versuche über die Symbiose als Mittel anaërober Kultur haben uns außerdem gezeigt, daß die Anaëroben sich nicht nur mit den Blastomyceten zusammen kultivieren lassen, sondern sich auch mit den Produkten des Stoffwechsels derselben entwickeln. Diese Tatsache bringt uns auf den Gedanken, daß die Anaëroben sich von selbst den Weg zur Entwickelung mit den Produkten ihres Stoffwechsels bahnen, indem sie sich so eine der ihrem Leben notwendigen Bedingungen schaffen.

Trenkmann[5]) bemerkte in der Tat, daß Schwefelwasserstoff die Entwickelung der Anaëroben in Gegenwart des freien Sauerstoffs begünstigt. Wir wissen außerdem, daß der Nährboden, auf welchem die Anaëroben sich entwickeln, immer von Schwefelwasserstoff durchdrungen ist, und daß die Entwickelung besonders auf säuerlichem, von Gehirn gebildetem Boden kräftig ist.

An diese Tatsache schließen sich die Versuche Kedrowskis[6]), Novys[7]), Kitts[8]), Braatz'[9]) und Hiblers[10]) über die Entwickelung der Anaëroben in reinen Kulturen, in flüssigem Boden und in Gegenwart der Luft an. Uns erscheint daher die Erklärung, welche Scholtz[11]) in dieser Hinsicht gibt, wahrscheinlich. Letzterer sagt, daß die Anaëroben im Innern der Kulturteilchen oder auch auf dem Boden der Kulturgefäße einen vollständig aëroben Raum finden, und daß sie selbst daran denken, denselben anaërobisch zu machen, indem sie den Nährboden mit den Produkten ihres Stoffwechsels füllen. Sie wären also fähig, sich selbst die nötigen Lebensbedingungen zu schaffen.

Daß der Sauerstoff wirklich, selbst bei geringen Spuren, zum Stoffwechsel der Anaëroben notwendig ist, beweist Beijerinck[12]), welcher beobachten konnte, daß der vollständige Mangel an Sauerstoff nicht das zu ihrer Entwickelung günstige Optimum der Verhältnisse darstellte, da sie sich in Gegenwart der geringsten Spuren von Sauerstoff meist kräftiger entwickeln. Auch Chudiakow[13]) zeigte durch erschöpfende Versuche, daß die kleine Menge von Sauerstoff (0,5 Proz.), welche der Entwickelung des Bacillus des malignen Oedems und dem des Tetanus günstig ist, sich nicht wie ein gleichgültiges Gas verhält, sondern tatsächlich im Stoffwechsel verzehrt wird.

---

1) Sanfelice, Ann. d'igiene sperim. della r. univ. di Roma. Vol. 1892. p. 348.
2) Obici, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896. No. 9/10.
3) Loc. cit.
4) Chudiakow, Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.
5) Trenkmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 1030, 1087.
6) Kedrowski, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. XX. 1895.
7) Novy, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 581.
8) Kitt, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 168.
9) Braatz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 737.
10) Hibler, Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 517.
11) Scholtz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 132.
12) Beijerinck, Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 341.
13) Chudiakow, Ref. Zeitschr. f. Hyg. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.

Gunning[1]) und Beijerinck[2]) bewiesen ebenfalls, daß sich die Anaëroben besser in Gegenwart geringer Spuren von Sauerstoff entwickeln.

Man würde aber nicht begreifen können, wie diese Anaëroben sich so riesig vermehren können, da sie ja nur die geringsten Spuren von Sauerstoff zur Verfügung haben, wie dies natürlicherweise in den Eingeweiden der Fall ist, während wir durch Lübbert[3]), der zuerst die Atmung der Bakterien, und durch Hesse[4]), welcher dieselbe eingehender studierte, wissen, daß die Entwickelung im Verhältnis zu dem Gaswechsel steht.

Es bleibt daher keine andere Hypothese als die, daß sie die Eigenschaft besitzen, den fehlenden Sauerstoff aus den Substanzen zu ziehen, welche das Substrat bilden.

Beijerinck bemerkte in der Tat, daß die Anaëroben einer leicht umwandelbaren Substanz bedürfen, gerade weil sie den Sauerstoff aus dem Substrat ziehen, wodurch sich der Zweck ihrer bedeutenden Gärungsfähigkeit erklärt.

Die gleiche Tatsache beobachtete auch Hesse. Er bemerkte, daß die Entwickelung der Anaëroben durch die Amidosäuren, Naphthole u. s. w. begünstigt wird, während die oxydierenden Substanzen, wie z. B. Chromkali, Jodsäure, ihr schädlich sind.

Außerdem wissen wir, daß aus dem Stoffwechsel sich freier, aktiver Sauerstoff entwickeln kann, wie es Wurster[5]) bewiesen hat, indem er Tetramethylparaphenylendiaminpapier als Reaktiv benutzte.

Da wir nun gesehen haben, daß die Anaëroben weniger gut in einem gänzlich an Sauerstoff freien Mittel gedeihen, so folgt, daß sie zu ihrer Entwickelung immer einer gewissen Menge freien Sauerstoffs bedürfen, welche sie in die Lage versetzt, sich dieses Gas selbst verschaffen zu können, indem sie dasselbe aus dem Substrat ziehen. Wir sagen: Zu ihrer Entwickelung, denn da sie, wie die anderen Bakterien, auch die Eigenschaft besitzen, im latenten Leben zu existieren, so können sie natürlicherweise in diesem Zustande mehr oder weniger auf den Sauerstoff verzichten.

Auch Bomy bewahrte verschiedene luftdicht verschlossene Kulturen von Mikroorganismen 4—5 Jahre lang im Zustande des latenten Lebens. Die oben angeführte Hypothese würde eine Analogie mit der Tatsache haben, die man in Zellen aller vertebralen Gewebe wahrnimmt, welche nicht mit dem freien Sauerstoff in Berührung kommen, sondern den Sauerstoff infolge ihrer chemischen Oxydierung dem Oxyhämoglobin entziehen, und wäre somit unbedingterweise dem Gesetze der allgemeinen Physiologie unterworfen, welches Verworn[6]) infolge der Erklärung der von Hermann[7]) beobachteten Tatsachen über die erhaltene Reizbarkeit des Musculus gastrocnemius eines Frosches, der in einen mit

---

[1]) Gunning, Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XVI. No. 17. p. 20.

[2]) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892. p. 73.

[3]) Lübbert, Biolog. Spaltpilzuntersuchung des Staphyl. pyog. aur. 1886. p. 5, 38 ff.

[4]) Hesse, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XVII. p. 17, 183; Bd. XXV. 1897. p. 477.

[5]) Wurster, Anwendung des Tetramethylparaphenylendiamins für quantitative Schätzung aktiven Sauerstoffs.

[6]) Verworn, Max, Fisiologia generale. Saggio sulla teoria della vita.

[7]) Hermann, Untersuchungen zur Physiologie der Muskeln und Nerven. Bd. III. Berlin 1868.

Stickstoff gefüllten Cylinder gelegt war, feststellte. Hermann bediente sich dieser Tatsache, um zu beweisen, daß, wenn der an Sauerstoff Mangel leidende Muskel noch Kontraktionen zeigt, derselbe auf Kosten der Scheidungsprozesse arbeiten muß; denn nach dem Zerstückeln und dem Ausbluten desselben konnte mit der Pumpe kein Sauerstoff mehr entzogen werden.

Verworn fand die Erklärung nicht entsprechend und unwahrscheinlich, denn aus der Tatsache, daß man dem Muskel keinen freien Sauerstoff mehr entziehen kann, darf man nicht schließen, daß sich im Muskel kein für die Oxydierungsprozesse brauchbarer Sauerstoff mehr befindet, und er hält es für wahrscheinlicher, daß im Muskel und besonders im Sarkoplasma der Fibrillenbüschel kombinierter Sauerstoff vorhanden ist, der beständig von den dehnbaren Teilchen infolge ihrer Oxydierung verzehrt wird.

Von dieser Hypothese geht Verworn zu dem Schlusse über, daß in den Zellen, die noch eine gewisse Zeit ohne Sauerstoff leben, noch Oxydierungsprozesse vor sich gehen, denn gewisse Atomkomplexe der lebenden Substanzen, welche Sauerstoff enthalten, entziehen den Sauerstoff infolge eigener Oxydation anderen Atomkomplexen, in denen der Sauerstoff feiner kombiniert ist, bis der Sauerstoff endlich vollständig aufgezehrt und mit den Trennungsprodukten kombiniert ist. Doch wie dies auch sei, Verworn schließt daraus, daß, sobald der Sauerstoff nach einer längeren oder kürzeren Zeit zu fehlen beginnt, alle anderen Organismen zu Grunde gehen; also ohne Sauerstoff gibt es kein Leben.

Dieses Gesetz, von welchem genannter Autor die Anaëroben ausschloß, ist für uns ein allgemeines physiologisches Gesetz, dem auch diese unterworfen sind.

Diese Ausnahme in der genialen Hypothese Mayers über das Atmen des freien Sauerstoffs besteht also nicht, und wenn die Oxydationsprozesse in der Reihe der Stoffwechselprozesse einen wesentlichen Prozeß bilden, ist es klar, daß die Gegenwart des Sauerstoffs zum Leben der Anaëroben notwendig und daß die Anaërobiose nur eine scheinbare Ausnahme im Gesetze der Natur ist.

Die Anaëroben sind daher unserer Meinung nach Mikroorganismen, deren Leben im Verhältnis zu einem Optimum der Minimalspannung des Sauerstoffs sich befindet, und welche außerdem die Eigenschaft besitzen, dieses Gas infolge ihrer Entwickelung den Stoffen zu entziehen, mit denen sie sich in Berührung befinden.

Daß diese Eigenschaft in Verbindung steht mit dem Vorhandensein eines besonderen Enzyms, welches die Zersetzung der schwächeren Kombinationen des Sauerstoffs leitet, könnte den Gegenstand weiterer Forschungen bilden.

Die erwähnte Eigenschaft und die Tatsache, daß es möglich ist, die Anaëroben daran zu gewöhnen, unter einem, selbst 10mal größeren Sauerstoffdruck zu wachsen, als der ist, den sie gewöhnlich ertragen, und der ihr Optimum darstellt, bringt uns auf den Gedanken, daß ähnliche Uebergänge und das Sichanpassen in ihrem Leben von großer Wichtigkeit in der Natur sind.

Bibliographie.

Braatz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 168.
Belfanti e Pescarolo, Giorn. della r. accad. med. di Torino. 1898. Mai.
Sanchez et Veillon, Arch. méd. expér. 1890. p. 709.

Vaillard e **Vincent**, Ann. d'igiene speriment. della r. univ. di Roma. Vol. VIII. p. 406.

Sanfelice e **Valagussa**, Ann. d'igiene speriment. della r. univ. di Roma. Vol. VIII. p. 406.

Beijerinck, Arch. Néerland. T. I, II. Sér. 2. 1899. p. 397.

Sanfelice, Ann. d'igiene speriment. della r. univ. di Roma. Vol. II. Fasc. 4.

Ampola, G. e **Ulpiani**, C., Rivista d'igiene e san. pubbl. 1899. p. 907.

By **Wright**, **James H.**, Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. 15. Januar. p. 74.

Vilett, A., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900. p. 420—437.

Petri-Maassen, Arb. a. d. kais. Ges.-A. Berlin.

Roux, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. II. p. 58.

Bulloch, **William**, A simple apparatus for obtaining plate cultures or surface growths of obligate anaërober. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. 5. Februar. p. 140.)

Hibler, E. V., Zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 517.)

Arens, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 15.

Wright, **James H.**, A method for the cultivation of anaërobic bacteria. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. No. 2. p. 61.)

Vilett, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXV. 1900. p. 420, 437.)

Drossbach, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 775.

Fermi, C., Manuale dell' ufficiale sanitario del Prof. Angelo Celli.

Epstein, **Stanislaus**, Apparat zur Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 266.)

Pasteur-Joubert-Chamberland, Cultures à l'abri de l'air. (Traité de microbiologie, E. **Duclaux**. T. I. p. 117.)

Klein, **Alese**, Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. p. 967.

Bulloch, **William**, Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. p. 140.

Zupnik, **Leo**, Ueber eine neue Methode anaërober Züchtung.

Abba, Manuale di microscopia e batteriologia.

Nikiforoff, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. VIII. 1890.

Braatz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1890.

Kabrhel, **Gustav**, Zur Frage der Züchtung anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 555.)

Landois, Physiologie des Menschen. 9. Aufl.

Lübbert, Biolog. Spaltpilzuntersuchung; der **Staphylococcus pyogenes aureus**. 1886. p. 38 ff.

Hesse, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XVII. 1893. Heft 5. p. 17; Bd. XXV. 1897. p. 477.

Wurster, **Casimir**, Anwendung des Tetramethylparaphenyldiamins zur quantitativen Schätzung aktiven Sauerstoffs.

Trenkmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 1030, 1087.

Kedrowski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.

Novy, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 581.

Kitt, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 168.

Braatz, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. p. 737.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten des in Erdboden eingesäten Typhusbacillus.

[Aus dem hygienischen Universitätsinstitute in München.]

Von Dr. **W. Rullmann.**

Bezugnehmend auf die unter obigem Titel 1901 von mir veröffentlichte Arbeit[1]), kann ich jetzt deren Fortsetzung bringen.

Die damals erhaltenen Resultate zeitigten die Absicht, den Typhusbacillus nach Einsaat in sterile Erden, deren absolute Keimfreiheit

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901. No. 8.

und Reinhaltung von anderen Bakterien während einer Zeitdauer von mindestens einem Jahre mit aller Sorgfalt herbeizuführen sei, in morphologischer und biologischer Hinsicht zu studieren. Daß erst jetzt diese Fortsetzung erscheinen kann, ist dadurch begründet, daß mehrfach angestellte Versuche die große Schwierigkeit ergaben, Erde in Mengen von 0,5—1 kg überhaupt vollkommen keimfrei zu machen und für längere Zeit steril zu erhalten. So kam es, daß zwei größere Versuchsreihen trotz aller verwendeten Mühe schließlich als mißlungen angesehen werden mußten.

Infolgedessen wurden dann sogenannte Saftflaschen gewählt, die zu $^1/_3$ gefüllt jedesmal nur 50 g Erdmaterial enthielten; je 6 solcher Flaschen wurden mit gewaschenem roten Flußsand, durchgesiebtem Humus und Bauschutt beschickt. Nach wiederholten Sterilisationsversuchen zeigte sich in den mit Humus beschickten Gläsern immer noch ein sporenbildender Bacillus, dessen Kolonieen sehr typhusähnlich wachsen und wohl mit dem von mir seiner Zeit[1]) beschriebenen identisch waren. Endlich aber war vollkommene Abtötung erreicht und im Gegensatze zu den früheren Versuchen erhielt jede Flasche nur ein zum Durchfeuchten notwendiges Quantum sterilen Wassers. Abermaliges Einstellen in den Brütschrank und 48-stündiges Belassen daselbst brachte dann nach Einsaat geringer Mengen aus jeder Flasche in ein Bouillonröhrchen den Beweis, daß endlich vollkommene Keimfreiheit erzielt war; hierauf erhielt dann jede Flasche einen ccm einer 48-stündigen Typhusbouillonkultur (Stamm Mesenterialdrüse) zugesetzt. Sämtliche Flaschen wurden dann noch leicht mit Papierbogen überdeckt, um hierdurch schwebende und später sich senkende Luftkeime von dem Auffallen und Durchdringen der Wattestopfen abzuhalten und so eine nachträgliche Verunreinigung zu vermeiden; so vorbereitet, wurden diese Kulturen am 20. Dezember 1902 in einen selten geöffneten Schrank des Laboratoriumssaales gestellt.

Die Darstellung von Typhusbouillonkultur für obigen Zusatz gab Veranlassung, vergleichende Untersuchungen über das Eintreten der Nitrosoindolreaktion anzustellen und wurden zu diesem Zweck von unseren sämtlichen zehn Stämmen Gelatineplatten angelegt und von jeder 3. Platte eine isoliert liegende charakteristische Kolonie abgestochen und in Bouillon bei 37° gezüchtet. Es zeigte sich, daß von den 24-stündigen Bouillonkulturen nur der Stamm Indien sofort eine leichte Reaktion ergab. Diese Kulturen nach 20-tägigem Stehen abermals untersucht, ergaben für folgende Stämme innerhalb einer Stunde leichte Reaktion: Král, Mesenterialdrüse, Chiari, Martius, 96, Maurer, Milz-Berlin. Keine Reaktion ergaben in dieser Zeit: Halle, Indien und Alt. Demnach war nur in der frischen Bouillonkultur vom Stamm Indien die Fähigkeit der die Nitrosoindolreaktion herbeiführenden Peptonzersetzung vorhanden und die 20-tägige Kultur hatte sie eingebüßt. Durch Kitasato[2]) ist bekannt, daß manche Coli-Stämme entgegen dem Verhalten der meisten übrigen kein Indol bilden; so wäre es auch möglich, daß hier einige ausnahmsweise Indol bildende Typhusbacillenstämme vorlagen. —

Im Mai 1903, also im 6. Monat nach der Einsaat, kam je eine Kultur zur Untersuchung; die Erden waren noch gleichmäßig feucht und

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. No. 25. p. 969.
2) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VII. 1889. p. 515.

mit sterilem 0,2 g fassenden Löffel wurden Proben entnommen und in Bouillon bei 37° gegeben. Bei allen drei Proben hatte sich die Bouillon nach 24 Stunden ohne Häutchenbildung getrübt, gleichfalls bei allen dreien war lebhafte, gerade für den Typhusbacillus so charakteristische Eigenbewegung im hängenden Tropfen nachzuweisen und Einstiche in Zuckeragar riefen keine Gärung hervor.

Die Agglutination trat ein bei:

Humus	in 10240-facher	Verdünnung
Sand	„ 40960 „	„
Bauschutt	„ 40960 „	„

Nach diesen befriedigenden Resultaten verblieben die übrigen Kulturen am bisherigen Aufbewahrungsorte und wurden erst ein Jahr später — Mitte Juni 1904 — wieder untersucht.

Bei äußerer Besichtigung zeigte sich, daß während Jahresfrist alle Kulturen staubtrocken geworden waren.

Zunächst gelangten nur geringe Erdmengen zur Einsaat in Bouillon; nachdem solche aber nach 24-stündigem Belassen bei 37° kein Wachstum ergeben hatten, wurde entsprechend früherer Erfahrung jedesmal der ganze übrige Inhalt einer Saftflasche mit steriler Bouillon durchfeuchtet und in den Brütschrank gesetzt. Nach 48 Stunden gelangte dann je 1 Oese auf 3 Gelatineplatten zur Aussaat. Die Platten von Sand gaben kein Ergebnis; der eingesäte Typhusbacillus war vollständig zu Grunde gegangen. Die Humusplatten dagegen zeigten vereinzelte und die Bauschuttplatten zahlreiche typhusbacillenähnliche Kolonieen. Auffallend war bei den Humusplatten die Entwickelung abnormer Kolonieen, wie sie von Lehmann und Neumann auf Tafel 19 für Colonbacillen angegeben sind; solche geben jedoch abgestochen und abermals zur Plattenkultur verwendet das zweifellos reine Bild von Typhusbacillenkolonieen.

Isoliert liegende Kolonieen dieser beiden Plattenarten dienten dann nach 24-stündigem Wachstum in Bouillon zum Nachweise der Eigenbewegung, Nichtvergären von Traubenzuckeragar, Nitrosoindolreaktion, Aussaat auf Kartoffeln u. s. w. und dann hauptsächlich zur Bestimmung der Agglutinationsfähigkeit.

Hierbei ergab sich für beide das gleiche Resultat, indem Humus in 2500-facher Verdünnung noch sehr deutlich, bei 5000-facher Verdünnung aber schwach agglutinierte und Bauschutt sich genau ebenso verhielt.

Nach dieser Zeit angestellte Versuche mit den noch übrigen Erdkulturen blieben jedoch ergebnislos, da in keinem Falle eine Entwickelung von Keimen nachzuweisen war. Somit war bei diesen Versuchsreihen nur bei Humus und Bauschutt eine Lebensdauer der Typhusbacillen in zuletzt vollkommen staubtrockner Masse festzustellen, während er in der Sandkultur schon früher vernichtet war.

Diese Resultate ergaben somit, daß

1) die Lebensfähigkeit des eingesäten Typhusbacillus in sterilen Erden, welche zuletzt staubtrocken waren, für 18 Monate nachgewiesen ist;

2) daß biologische Veränderungen nach dieser Frist nur bezüglich der Agglutination zu bemerken sind, indem solche von 10000- und 40000-facher Verdünnung auf 2500 zurückging;

3) die bei Humusplatten nachgewiesenen abnormen Kolonieen wohl als belanglos zu bezeichnen sind, da solche abgeimpft und wieder zu Plattenkulturen verwendet, die regelmäßige Typhuskolonieform mit

allen notwendigen Eigenschaften ergaben und sonstige morphologische Unregelmäßigkeiten nicht beobachtet wurden.

Die in meiner eingangs angeführten Arbeit niedergelegte Anschauung, daß die chemische Beschaffenheit der Erde wesentlichen Einfluß auf die Lebensfähigkeit des eingesäten Typhusbacillus ausübe, wird außer von Martin[1]) auch von Levy und Kayser[2]) geteilt; auch die vorliegenden Resultate dürften wohl aufs neue diese Anschauung verstärken, da in dem an organischer Substanz ärmeren und überdies noch besonders ausgewaschenen Flußsande der eingesäte Typhusbacillus unter sonst ganz gleichen Umständen eher als in dem Humus und Bauschutte abgestorben ist.

München, den 31. Januar 1905.

Nachdruck verboten.

Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen[3]).

[Mitteilung aus dem Blegdamshospital zu Kopenhagen.]

Von **V. Ellermann,** 1. Assistenten.

Mit 1 Tafel.

Bevor ich zu meinen eigenen Fällen übergehe, muß ich in aller Kürze einige der Mikroben besprechen, welche bei nekrotischen Prozessen der Tiere und des Menschen gefunden worden sind. Der bestbekannte derselben ist der Nekrosebacillus. Dieser Bacillus wurde von Loeffler bei der Kälberdiphtherie gefunden. Später wies Bang seine große Bedeutung in der Tierpathologie nach. Es gelang ihm auch, den Bacillus in Reinkultur zu gewinnen. Im nekrotischen Gewebe liegen die Bacillen in großer Menge dicht an der Grenze des lebenden Gewebes, in dem vereinzelte Bacillen eine Strecke weit ins lebende Gewebe eindringen. Die Bacillen wachsen anaërob, und zwar nur auf serumhaltigen Nährböden.

Der Nekrosebacillus wurde bei einer ganzen Reihe verschiedener Tiere nachgewiesen. Beim Menschen wurde er aber bis jetzt nicht gefunden. Nur Schmorl berichtet über unbedeutende Laboratoriumsinfektionen, nämlich kleine Abscesse mit Nekrosebacillen im Eiter. Die Vermutung, es handle sich bei der Noma um eine Nekrosebacilleninfektion, ist mehrfach aufgestellt, aber niemals bewiesen worden.

Bei den menschlichen Nekrosen hat man gewöhnlich zwei andere Mikroben, nämlich einen spindelförmigen Bacillus, Bacillus fusiformis, sowie eine feine Spirochäte gefunden. Dieselben sind neulich von Beitzke[4]) in einer zusammenfassenden Uebersicht beschrieben worden, weshalb ich nicht näher auf sie einzugehen brauche.

Es könnte also aussehen, als gehörte der Nekrosebacillus ausschließlich den Tieren, und daß der Fusiformis und die Spirochäte den menschlichen Nekrosen eigentümlich wäre. Die Ursache hiervon könnte

---

1) British Medical Journ. 1898. Jan. 8.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 7.

3) Nach einem Vortrag, gehalten in der biologischen Gesellschaft zu Kopenhagen am 27. Oktober 1904.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. No. 1 u. 2.

in besonderen Immunitätsverhältnissen gesucht werden, derart, daß z. B. der Nekrosebacillus für den Menschen avirulent sei. Man könnte annehmen, daß die reinlichere Lebensweise des Menschen einen Unterschied bewirkte. Schließlich sei die Möglichkeit erwähnt, daß diejenigen, welche die Nekrosen der Tiere untersucht haben, wesentlich die Nekrosebacillen berücksichtigt, während umgekehrt die Mediziner die Fusiformes gesucht und gefunden haben.

Fall I.

9-monatlicher Knabe. Aufgenommen am 11. Novbr. 1903 wegen Krup. Keine Infektionskrankheiten früher. Von Ansteckung ist keine Rede. In den letzten drei Tagen Heiserkeit, wozu sich später Husten und Atembeschwerden hinzugesellten. Bei der Aufnahme bestand etwas Heiserkeit und leichte Stenose. Respiration 36. Puls 128. Temperatur 39,9. Nichts Besonderes bei der Brustuntersuchung. Kein Exanthem.

Dampfzimmer. Mixt. camphorat. Serum 4000 I.E.

12. November. 40,9/40,5. Benommen und kurzatmig. Kein Schlaf. Bei der Morgenvisite cyanotisch und kalt. Um 9 Uhr gestorben.

Serumkultur: Keine Diphtheriebacillen.

Klinische Diagnose: Laryngitis. Pneumonie.

Die Sektion ergab folgendes: Diphtheritis faucium, Diphth. naso-pharyngealis, Diphth. laryngis, Adenitis colli. Pneumonia l. inf. utriusque.

Die Beläge waren gelb, fest, nicht ablösbar, sahen aus wie die nekrotischen Scarlatinabeläge. Eine neue Serumkultur zeigte ebenfalls keine Diphtheriebacillen. In Leber und Milz wurde nichts gefunden.

Schnitte der Uvula

zeigen im Innern die normalen Gewebsbestandteile, lymphoides Gewebe, quergestreifte Muskelfasern, Schleimdrüsen. Das Epithel fehlt im ganzen Umkreise; an seiner Stelle findet man eine teilweise ziemlich dicke Schicht nekrotischen Gewebes, das durch seine Blässe sich gegen das lebende Gewebe stark abhebt. Daß es sich um eine Nekrose und nicht etwa um eine diphtheritische Membran handelt, ist daraus zu ersehen, daß die Weigertsche Fibrinfärbung ein negatives Resultat gibt; ferner daraus, daß man im blassen, kernlosen Gebiete thrombosierte Gefäße voll Kokken sieht. In Schnitten, die nach Claudius gefärbt sind, sieht man unter der Oberfläche verschiedene Bakterien, besonders Kokken in großer Menge. Darauf folgt eine Schicht mit spärlichen Kokken und Bacillen. Endlich begegnet man ganz in der Tiefe der Nekrose, an der Grenze des lebenden Gewebes, einem dichten Filz langer Bacillen, gewöhnlich ohne Beimischung von anderen Mikroben (Fig. 1). Sie sind palissadenförmig angeordnet derart, daß sie senkrecht zur Grenzlinie zwischen lebendem und totem Gewebe stehen. Diese große Anhäufung von Bacillen liegt also im nekrotischen Gewebe, aber vereinzelte Bacillen gehen auch eine Strecke weit ins lebende Gewebe hinein (Fig. 2). Das lebende Gewebe ist an dieser Stelle etwas mit Leukocyten infiltriert. Die Bacillen färben sich mit gewöhnlichem Methylenblau schwach, besser mit dem Loefflerschen Methylenblau. Sie enthalten oft stark gefärbte Babes-Ernstsche Körnchen (Fig. 3). Sie färben sich nicht nach Gram, dagegen nach Claudius und nach Weigert. Es zeigt sich, daß es nicht die Pikrinsäure oder das Jod-Jodkali ist, worauf es ankommt. Es ist die Entfärbung, die entscheidend ist, und zwar derart, daß Nelkenöl und Anilin die Färbung bewahren, während Alkohol entfärbend wirkt. — Spindelförmige Stäbchen oder Spirochäten wurden nirgends gefunden.

Schnitte des pneumonischen Lungenstückes zeigten starke Erweiterungen der Alveolenkapillaren; in den Alveolenhöhlen lagen teils körnige Massen, teils Leukocyten, teils Fibrinfasern, ferner an den meisten Stellen zahlreiche Erythrocyten. Bacillen wurden nicht gefunden, dagegen ziemlich häufig Haufen von Kokken.

Dieser Fall scheint mir eine große Aehnlichkeit mit einer Nekrosebacilleninfektion darzubieten. Es ist natürlich eine gefährliche Sache, einen Bacillus ohne Kultur, bloß mittels morphologischer Kennzeichen bestimmen zu wollen. Es ist indes nicht allein die Form der Bacillen, die ähnelt. Auch die Färbungen stimmen: Sie enthalten Körnchen, die mit Methylenblau metachromatisch gefärbt werden. Sie färben sich nach Claudius, entfärben sich nach Gram. Hierzu kommt die typische Lagerung der Bacillen dicht an der Grenze; endlich die biologische Wirkung — die Nekrose.

Wenn man bedenkt, daß die Krankheit mit Kehlkopfsymptomen angefangen hat, wozu später Zeichen einer Lungenaffektion kamen, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß es sich um eine primäre Nekrosebacilleninfektion handelt.

Fall II.

23-jähriges Mädchen, am 28. Novbr. 1903 wegen Scharlach aufgenommen. Es war kein besonders schwerer Fall. Die Zunge war zuerst belegt, später frei. Im Rachen zerstreute Belage; das Exanthem schwach; Temperatur ca. 39°. In der Folge leichte Gelenkaffektionen und deutliche Abschuppung. Die ganze Zeit waren Zeichen einer Anämie vorhanden. Pat. fühlte sich müde, hatte Ohrensausen, Schwindelempfindung. Erster Herzton ausgezogen, das Aussehen anämisch. Nachdem sie 17 Tage im Krankenhaus gewesen war, entwickelte sich eine Gingivitis, von cariösen Zähnen ausgehend. Die Entzündung verbreitete sich immer mehr, bekam bald ein ausgesprochen nekrotisches Aussehen. Starker Foetor ex ore, die Temperatur stieg wieder. Trotz der Behandlung wanderte die Nekrose beständig weiter. Die Schleimhaut der Backen und Lippen wurde mitergriffen. Allgemeinzustand immer schlechter. Die Nekrose war eben im Begriff, die Oberlippe zu durchbrechen, als Pat. 27 Tage nach dem Anfang der Stomatitis verendete.

Diagnose: Scarlatina, Diphtherit. fauc. D. B., Rheumatismus, Stomatitis gangraenosa, Anaemia.

Die Sektion zeigte folgendes: Stomatitis gangraenosa, Adenitis colli, Ulcera laryngis, Ekchymosis pleurae, pericardii et endocardii, Pleuritis adhaesiva dextra, Bronchitis purulenta, Bronchopneumoniae l. inf. dext., Perisplenitis fibrosa, Infarctus lienis, magno gradu, Anaemia et Deg. parench. organor.

Um zu erläutern, ob es sich auch in diesem Falle um eine Nekrosebacilleninfektion handelte, wurden kleine Stückchen des nekrotischen Gewebes Kaninchen und Mäusen subkutan eingeimpft. Ferner wurden Stückchen für die Mikroskopie fixiert, indem einige derselben schon 11 Stunden, andere erst 36 Stunden nach dem Tode der Leiche entnommen wurden. Auch Kulturversuche mit Serumagar wurden gemacht.

Einimpfung des nekrotischen Gewebes auf Tiere.

Im ganzen wurden 3 Kaninchen und 9 Mäuse subkutan geimpft. Das Resultat war stets dasselbe, nämlich Abscesse mit dickem, etwas übelriechendem Eiter. Bei den Kaninchen wurden lange, nekrotische Bindegewebsfetzen ausgestoßen. Im Eiter fanden sich spärliche Bacillen mit blassen Körnchen. Bei einem Kaninchen wurde ein Stück exzidiert. Die mikroskopische Untersuchung zeigte folgendes: In den tieferen Teilen der Haut sieht man viele polynukleäre Leukocyten; ganz unten im Schnitte teils Absceßbildung, teils schöne Fibrinnetze. Ferner in einem kleinen Gebiete typische Nekrose. Man sieht nämlich hier deutliche Gewebsstruktur, die Kernfärbung fehlt aber ganz. Nach Färbung mit dem Loefflerschen Methylenblau sind in dem nekrotischen Gewebe teils Kokken, teils zerstreute, oft büschelförmig geordnete, schlanke, gerade Bacillen zu sehen. Sie enthalten keine Babes-Ernstschen Körnchen. Oft sind ihre Enden zugespitzt. Offenbar handelt es sich hier um spindelförmige Bacillen. Spirochäten wurden nirgends gesehen.

Die Abscesse verliefen bei allen Tieren ohne Komplikationen, und die Tiere genasen.

Kulturversuche.

Mit Material aus der Tiefe der Nekrose wurden hochgeschichtete Serum-Agarröhrchen geimpft. Unter anderen Bakterien kamen auch Kolonieen von schlanken Stäbchen zum Vorschein. Es gelang aber nicht, trotz vieler Mühe, dieselben reinzuzüchten. Das lag wesentlich daran, daß ich einen anderen, sehr schnell wachsenden Bacillus nicht eliminieren konnte. Dieses Stäbchen wuchs sowohl aërob wie anaërob; es entwickelte reichlich Gas und verflüssigte den Nährboden. Dieser Versuch mißglückte also, dagegen gelang es auf andere Weise, eine Reinkultur zu gewinnen, indem ich einigen Kaninchen die unreinen Kulturen einimpfte. Bei einem derselben entstand ein Absceß, in dessen Eiter nur spindelförmige Bacillen, keine anderen Mikroben, vorhanden waren. Es war nun ein leichtes, den Bacillus fusiformis reinzuzüchten. Die Kultur soll später besprochen werden.

Mit ein wenig Eiter aus dem erwähnten Fusiformis-Absceß impfte ich ein Kaninchen. Nach einigen Tagen entwickelte sich ein Absceß mit spindelförmigen Bacillen. Mit dem Eiter wurde ein neues Kaninchen geimpft u. s. w., im ganzen 7mal. Im Eiter wurden stets nur Fusiformes gefunden. Dann wurde der Versuch nicht weitergeführt. Es zeigt sich also, daß die spindelförmigen Bacillen allein, ohne Beihilfe anderer Bakterien, pathogen wirken können.

Untersuchung der Schnitte.

Im ganzen wurden 8 Stücke untersucht, nämlich aus dem Backen, der Lippe, der Gingiva, der Zunge, des Larynx. Sie wurden in Alkohol, Formol oder Müllerscher Flüssigkeit fixiert. Es wurde Celloidineinbettung und darauf Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, wäßrigem Methylenblau, Loefflers Methylenblau, Karbolfuchsin, ferner Färbung nach Gram, Claudius und Weigert angewandt.

Fast alle Stücke boten genau dasselbe Bild dar. Nach Alkoholfixierung und Färbung mit Loefflerschem Methylenblau sieht man folgendes: Im lebenden Gewebe findet sich ein wenig Infiltration mit Leukocyten. In der Nähe der Nekrose bieten die Leukocytenkerne eine eigentümliche Degenerationsform dar, da sie mit zahlreichen verzweigten Ausläufern versehen sind. Diese Erscheinung ist auch von Ranke beschrieben worden. Auch die Bindegewebskerne zeigen verschiedene Degenerationserscheinungen. Die kleinen Venen sind mit Leukocyten vollgestopft. Die Grenze zwischen lebendem und nekrotischem Gewebe ist oft ziemlich scharf, bald geradlinig, bald zackig. Das nekrotische Gewebe hat seine ursprüngliche Struktur größtenteils beibehalten; Kernfärbung fehlt ganz. Bei der Weigertschen Fibrinfärbung werden keine Fibrinfasern nachgewiesen. Im nekrotischen Gewebe färben sich nur die Bakterien, die Mastzellenkörnchen sowie unregelmäßig geformte Körnchen und Klumpen, die eine Strecke weit von der Nekrosegrenze entfernt liegen. Die Bakterien sind folgendermaßen verteilt: Unter der Oberfläche liegt eine dicke Schicht von Kokken. Hierauf folgt eine Schicht mit fadenförmigen Bacillen, die oft Schlingen oder Ringe bilden. Ferner eine Schicht mit großen Massen von schlanken, spindelförmigen Bacillen, welche mit feinen Spirochäten und plumpen, kommaförmigen Stäbchen vermischt sind. Die letzten behalten nach Gram die Färbung, während die spindelförmigen Bacillen und die Spirochäten sich entfärben. Die Lagerung der spindelförmigen Bacillen ist durch die Struktur des Gewebes bestimmt, indem sie z. B. in den Zwischenräumen der Bindegewebsfasern gelegen sind. Am zahlreichsten sind sie eine kleine Strecke von der Nekrosegrenze entfernt zu finden; hier sind sie in fast reinem Zustande vorhanden. Zwischen dieser „Fusiformis-Zone“ und der Nekrosegrenze sieht man einen helleren Raum, der spärliche Fusiformis enthält, aber hauptsächlich aus einem dichten Filz der feinen Spirochäten besteht. Bei Färbung mit gewöhnlichem Methylenblau entgehen sie leicht der Aufmerksamkeit; sie entfärben sich ebenfalls nach Gram und Claudius. Einigermaßen kräftig werden sie von dem Loefflerschen Methylenblau gefärbt. Sie sind erst mit Immersion deutlich zu sehen[1]). Die Spirochäten dringen nun, von spärlicheren Fusiformes begleitet, eine Strecke weit ins lebende Gewebe hinein (Fig. 4). In der Fig. 5 sieht man die Spirochäten allein, in die Bindegewebsräume vordringend. — In den formolfixierten Stücken sind die Spirochäten nur sehr schlecht färbbar.

Wie gesagt, fixierte ich 2 Stücke in Kalium bichromicum in der Absicht, die von C. O. Jensen angegebene spezifische Nekrosebacillenfärbung anzuwenden (Toluidinsaffranin, alkoholische Saffraninlösung, Fluorescin-Nelkenöl, Methylgrün). Das Resultat war ein völlig negatives. Bei Methylenblaufärbung wurden hauptsächlich Kokken gesehen, außerdem spärliche Bacillen. Vermutlich ist die Fixierung nicht zweckmäßig gewesen.

Ein etwas abweichendes Bild wurde in einem einzelnen Stück (Gingiva) gefunden. In der schmalen nekrotischen Schicht lagen nämlich außer Kokken ziemlich zahlreiche, schlanke, etwas gekrümmte Bacillen mit metachromatischen Körnchen. Diese Bacillen glichen etwas den Nekrosebacillen, sie waren jedoch nicht so massenhaft vorhanden und so typisch gelagert, wie in dem Fall I. An anderen Stellen fehlten sie, und an ihrer Stelle fanden sich die Fusiformes.

Sieht man von diesem letzten Falle weg, so hat man überhaupt keinen Grund, eine Nekrosebacilleninfektion anzunehmen. Bei den geimpften Tieren entwickelte sich keine fortschreitende Nekrose. Die spezifische Nekrosebacillenfärbung gab ein negatives Resultat. Die histologische Untersuchung zeigte, daß man in den tiefen Teilen der Nekrose und in den angrenzenden Teilen des lebenden Gewebes spindelförmige Bacillen und Spirochäten nachweisen konnte. Diese Bakterien spielten hier augenscheinlich dieselbe Rolle wie die Nekrosebacillen in dem Fall I. Ich möchte glauben, daß die Spirochäten ein wichtiger Faktor bei der Nekrose seien; mit Bezug auf diesen Punkt kann aber vorläufig nichts Sicheres gesagt werden.

Eine andere Frage ist die: „Findet man bei der Noma immer die beiden genannten Mikroben als Ursache?“ Nach den Angaben in der Literatur könnte es aussehen, als ob verschiedene Bakterien dabei wirksam wären. Ein Teil der Fälle ist aber höchstwahrscheinlich mit dem meinen übereinstimmend, so die Fälle von Bartels, Perthes, Seiffert, Ranke, Bernheim, Popischil, Hofmann, Küster. Mehrere dieser Forscher erwähnen, wie ich oben hervorgehoben, daß der Nachweis der Spirochäten schwierig ist. Es ist deshalb sehr wahrscheinlich, daß sie in anderen Fällen wegen unzweckmäßiger Technik übersehen worden sind. Perthes wandte Karbolfuchsinfärbung während 24 Stunden an und erhielt dadurch eine kräftige Färbung der Spirochäten. Er meinte, deutliche Uebergänge von spindelförmigen Bacillen in Spirochäten gesehen zu haben. Solche Bilder habe ich niemals gefunden; im Gegenteil ist es mir fast immer möglich gewesen, die beiden Arten in den Schnitten unterscheiden zu können. Der eine Fall Perthes hat eine besondere Bedeutung dadurch, daß das nomatöse Stück exzidiert und im frischen Zustande fixiert wurde. Die Möglichkeit einer postmortellen Bakterieninvasion ist also ausgeschlossen. Ueberhaupt haben die früheren Untersucher nur sehr dürftige Beschreibungen gegeben, oder wie Perthes, ihre Befunde anders, als ich es getan, gedeutet.

---

[1]) Um die Spirochäten gut sehen und sie von den Gewebsteilen bequem unterscheiden zu können, wandte ich mit Vorteil gelbes Licht an. Eine Lösung von Kalium bichromicum wurde als Filter benutzt. An Stelle eines durchweg blauen Präparats erhielt ich dunkelbraune Bakterien auf hellgrünem Untergrunde. Bindegewebs- und elastische Fasern sahen grün aus.

Freymuth, Petruschky, Passini, Leiner fanden bei Noma Diphtheriebacillen und betrachteten dieselben als Ursache der Krankheit. Ich finde diese Annahme etwas gewagt, ich würde vielmehr glauben, die Diphtheriebacillen wären in diesen Fällen lediglich als Komplikation vorhanden.

In den anderen Organen ließen sich beim Fall II keine Bakterien nachweisen. Untersucht wurden Schnitte der Leber, der Niere, der Milz und einer Halslymphdrüse.

Kultur und Biologie der spindelförmigen Bacillen[1]).

Außer dem oben erwähnten Stamm gelang es, einen spindelförmigen Bacillus aus einem Anginafall reinzuzüchten. Ein wenig des Belages wurde in sterile Bouillon verrieben und Serumagarröhrchen in 3 Verdünnungen damit beschickt. In dem Röhrchen I und II wurden nur Kokkenkolonieen gefunden. Im Gläschen III waren nur ganz vereinzelte Kolonieen, unter denen eine von Fusiformis und eine andere mit kleinen kurzen Spirillen. Die beiden Fusiformis-Stämme verhielten sich ganz gleich, weshalb ich sie auf einmal beschreiben kann.

In hochgeschichtetem Serumagar (2 Teile Agar, 1 Teil flüssiges Pferdeserum, bei 52° gemischt) erscheinen die Kolonieen ca. 36 Stunden nach der Aussaat. Die kleinsten Kolonieen sehen aus wie Büsche, die von den Eiweißklümpchen des Nährbodens auswachsen (Fig. 6). Sie können bis 2 mm groß werden. Die Form ist prismatisch, die Farbe leicht gelblich. Die Kulturen riechen etwas unangenehm; gewöhnlich werden keine Luftbläschen gebildet; bei dichter Aussaat wird zuweilen ein vereinzeltes gesehen. Die Kolonieen entwickeln sich nur anaërob, in den obersten 2—3 Centimetern des Substrates findet gar kein Wachstum statt. Der Nährboden wird getrübt; nicht verflüssigt. In Serumbouillon, unter Stribolts Pyrogallussäureverschluß, bilden sich nach 24 Stunden weiße Flocken, die später zu Boden sinken, während die Flüssigkeit selber klar bleibt. An der Oberfläche von Serumagar, auf ähnliche Weise gegen den Sauerstoff geschützt, bilden sich nach 2 bis 3 Tagen kleine, durchsichtige, streptokokkenähnliche Kolonieen oder ein zusammenhängender, feinkörniger Belag. In gewöhnlicher Bouillon oder Agar bekam ich kein Wachstum, ebensowenig in Hesses Agar, Traubenzuckeragar oder erstarrtem Serum.

---

[1]) Eine vorläufige Mitteilung über die Kultur der fusiformen Bacillen wurde in dieser Zeitschrift, Bd. XXXVII, 1904, veröffentlicht.

Die Fusiformes sind schlanke, ziemlich gerade Stäbchen, deren Enden oft zugespitzt sind. Die Länge beträgt 5—12 μ; bisweilen werden sehr lange Fäden gebildet. Oft hängen sie zu zweien mit den Enden zusammen, seltener sieht man Ketten von 3—4 Individuen. In Serumbouillon werden nicht längere Formen als auf festem Nährboden gebildet.

Der Bacillus ist unbeweglich.

Er färbt sich unregelmäßig; gewöhnlich schwächer als diejenigen, die dem menschlichen Organismus entnommen sind. Nach Claudius entfärbt er sich sehr schnell. Nach Gram oder Weigert behält er die Färbung bei kurzer Entfärbung. Er enthält keine Babes-Ernstschen Körnchen.

Abweichende Formen habe ich ein paarmal beobachtet. Das eine Mal fand ich außer den normalen viele längere Individuen, die an der Mitte eine spindel- oder kugelförmige Aufschwellung hatten. Diese Formen, die völlig identisch mit den von Perthes in seiner Fig. 8 abgebildeten sind, habe ich nur ein einziges Mal gefunden, ohne daß ich die Ursache ihrer Entstehung erklären kann. Die Kultur war nicht verunreinigt. Das Bild erinnert ein wenig an die Erscheinung, die als Plasmoptyse bekannt ist. Möglicherweise könnte es sich auch um eine Dauerform handeln. — Die andere ungewöhnliche Form entstand, nachdem längere Zeit als gewöhnlich zwischen zwei Weiterimpfungen vergangen war. Die Bacillen waren in diesem Falle blaß und geschwollen, aber mit stark gefärbten Einschnürungen versehen. Viele Bacillen boten das Aussehen ungefärbter Fäden mit 5—6 gefärbten Körnchen dar. Diese Einschnürungen oder Körnchen färbten sich nicht wie die metachromatischen Körnchen, dagegen kräftig mit verdünntem Karbolfuchsin in feuchtem Präparate, genau wie die analogen Bildungen bei den Diphtheriebacillen.

Mit der Reinkultur wurden zwei Kaninchen subkutan, zwei intraperitoneal geimpft. Bei einem der ersten entwickelte sich ein Absceß, in dessen Eiter spärliche Fusiformes gefunden wurden. Die übrigen Tiere blieben gesund.

Die hier geschilderten Kulturverhältnisse weichen in mehreren Beziehungen von den bisher beschriebenen ab. Die meisten Untersucher haben unreine Kulturen gehabt, weshalb auf ihre Angaben nicht zu viel Gewicht gelegt zu werden braucht. Nur die Kultur Veillons und Zubers kann mit der meinigen verglichen werden. Ihre fusiformen Stäbchen stammten aus Appendicitisfällen. Sie wuchsen anaërob in Traubenzuckeragar und hatten überhaupt mit meinen Stämmen eine gewisse Aehnlichkeit. Ein Unterschied ist der, daß V. und Z. die Kolonieen als bräunlich beschreiben, während meine nur gelblich sind. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß ihre Kulturen nur 4—5 Tage lebensfähig waren, während meine Kulturen 2—3 Wochen haltbar waren. Die Ursache hiervon ist vielleicht darin zu suchen, daß V. und Z. Traubenzuckerzusatz anwendeten. Der Hauptunterschied ist indessen, daß meine Fusiformes nur auf serumhaltigem Nährboden wachsen können. Die vielen mißlungenen oder nur halbwegs gelungenen Kulturversuche könnten sehr wohl darauf deuten, daß die Fusiformes gewöhnlich anspruchsvoll seien und nur beim Serumzusatz gut gedeihen. Was die gelungenen Kulturversuche Veillons und Zubers betrifft, so läßt sich denken, daß sie zufällig mit weniger anspruchsvollen Stämmen zu tun gehabt haben. Die Ursache davon, daß die Kultur gewöhnlich mißlungen ist, muß also teilweise darin gesucht werden, daß die Bacillen serophil sind; weiter darin, daß sie sich langsamer als die Kokken entwickeln. Die Kokken vergiften den Nährboden, der also für die Fusiformes unbrauchbar wird. Endlich sind vielleicht die meisten Bacillen im Aussaatmaterial schon tot oder geschwächt.

Die oben beschriebenen Fusiformes entsprechen der langen Form der Vincentschen Bacillen. Die Kulturen haben niemals Spirochätenformen enthalten, woraus zu schließen ist, daß Fusiformes und Spirochäten zwei verschiedene Arten sind.

Es ist ferner fraglich, ob die kurzen, stark gekrümmten und gebogenen Formen den Fusiformes zugehören. In dem Falle von Angina, den ich untersuchte, waren die kurzen, dicken Formen mit einem kleinen Spirillum identisch.

Dieses Spirillum, dessen Reinzüchtung auch glückte, ist, wie der Fusiformis, anaërob und serophil. Die Kolonieen erscheinen erst nach 3 Tagen, bleiben klein, ca. $^1/_2$ mm im Diameter. Sie sind sehr fest zusammenhängend, lassen sich als kleine Klümpchen aus dem Serumagar herausholen. Die jungen Individuen haben eine lebhafte, schraubenartige oder wirbelnde Bewegung. Ihre Länge beträgt 2—5 μ. Sie entfärben sich nach Gram und Claudius. Vielleicht sind sie mit den Spirillen identisch, welche Salomon bei ulcerösen Anginen gefunden hat.

Was die Frage der Beweglichkeit der spindelförmigen Bacillen betrifft, so haben die meisten Untersucher gefunden, daß sie unbeweglich sind. Einige haben aber langsame, wackelnde Bewegungen gesehen, und Graupner bildet sogar geißeltragende Fusiformes ab. Meine Fusiformes waren immer unbeweglich, und ich bin deshalb geneigt, zu glauben, daß Graupner eine ganz andere Art vor sich gehabt hat. Vielleicht könnte es Spirillum serpens gewesen sein; dasselbe lebt in faulenden Flüssigkeiten und hat eine derart flache Schraube, daß es tatsächlich dem Fusiformis ähneln kann.

Da die spindelförmigen Bacillen den Nekrosebacillen in mehreren Beziehungen ähnlich sein können, ist es vielleicht nützlich, die beiden Bacillen näher zu vergleichen.

Beide sind sie schlanke Stäbchen, die oft körnig sind, die anaërob auf serumhaltigen Nährboden wachsen und bei nekrotischen Prozessen zu finden sind.

Sie unterscheiden sich in folgenden Punkten:

	Fusiformis	Nekrosebacillus
Form	Oft zugespitzte Enden	Abgerundete Enden
Färbung	besser nach Gram als nach Claudius	besser nach Claudius als nach Gram
Ernstsche Körnchen	—	+
Lagerung im Gewebe	atypisch	typisch
Metastasen	—	+
Einimpfung auf Tiere	Absceß	Nekrose
Form der Kolonieen	wohlbegrenzt, eckig	buschig
Gasbildung	—	+
Serumbouillonkultur	kurze Formen	lange Fäden

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. I. Bd. XXXVIII.

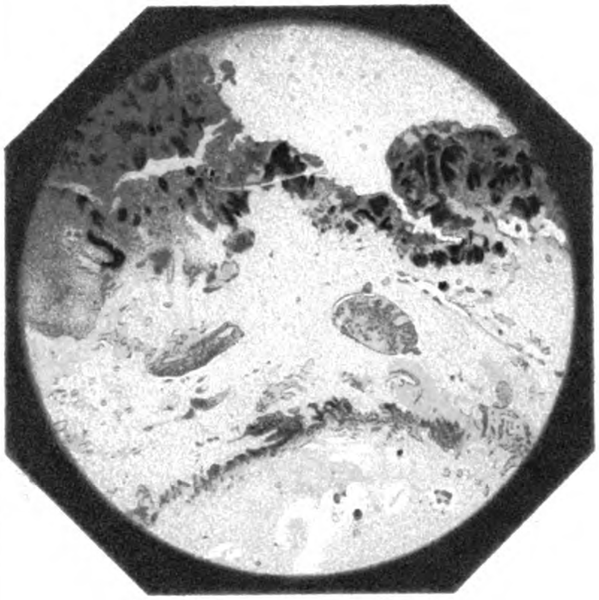


Fig. 1.

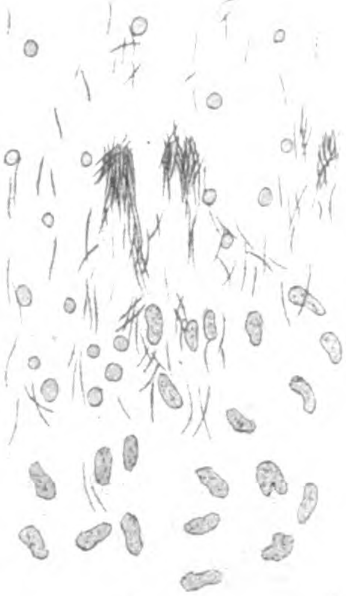


Fig. 2.

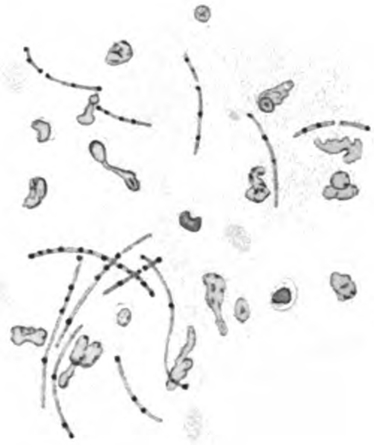


Fig. 3.

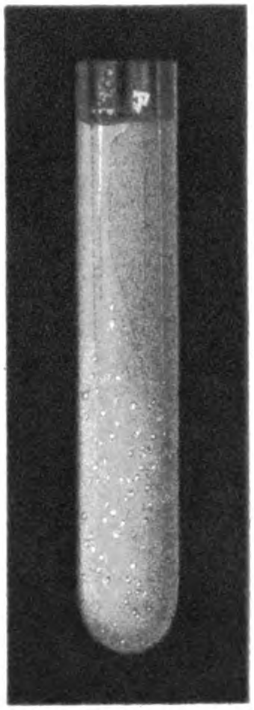


Fig. 6.

V. Ellermann gez.

Verlag v. Gustav Fisch

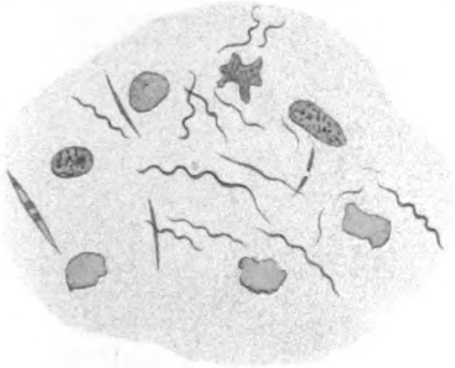


Fig. 4.

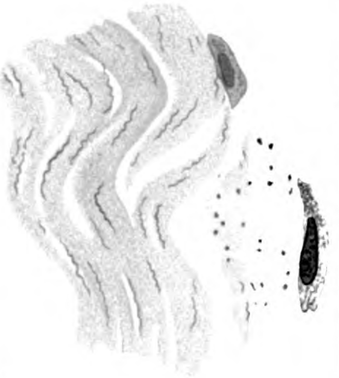


Fig. 5.

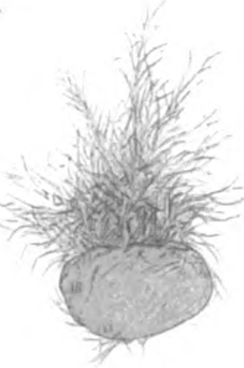


Fig. 8.

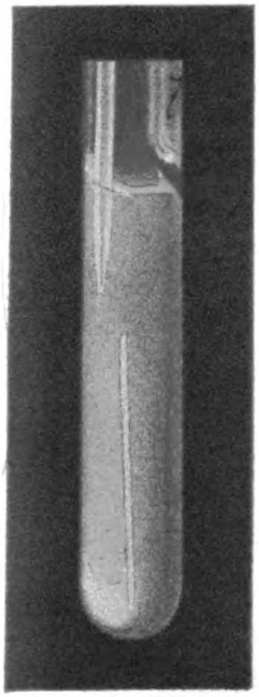


Fig. 7.

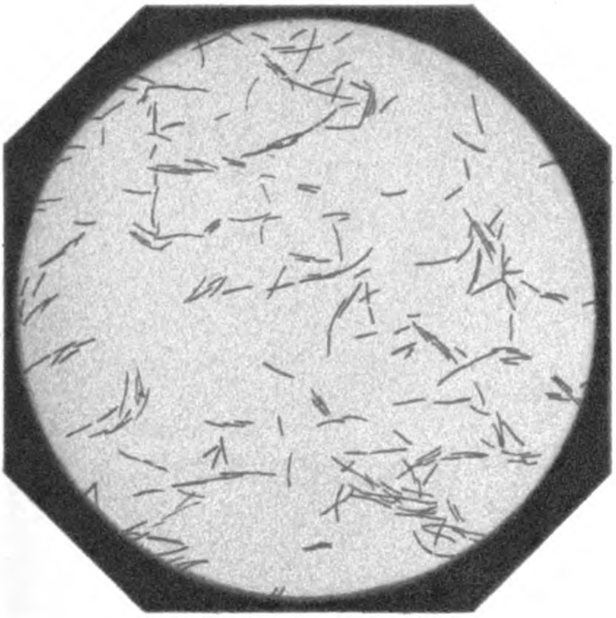


Fig. 9.

Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena

9

Zum Schlusse sei es mir erlaubt, dem Vorsteher des Krankenhauses, Herrn Prof. Dr. med. **Sörensen**, meinen herzlichsten Dank auszusprechen sowohl für die Erlaubnis, die Journale zu benutzen, sowie für die Liebenswürdigkeit, womit er seine Sammlung makro- und mikroskopischer Präparate mir zur Verfügung stellte.

Literatur.

Bang, Om Aarsagen til lokal Nekrose. (Maanedsskrift for Dyrlaeger. 1890.)
Bartels, Ueber Noma. Inaug.-Diss. Göttingen 1892.
Beitzke, Ueber die fusiformen Bacillen. [Uebersichtsartikel.] (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Referate. Bd. XXXV. 1904.)
Bernheim und **Popischil**, Zur Klinik und Bakteriologie der Stomatitis ulcerosa. (Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. XLVI. 1898. p. 434.)
Ellermann, Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904.)
Freymuth und **Petruschky**, Ein Fall von Vulvitis gangraenosa. (Dtsche med. Wochenschr. 1898.)
Graupner, Ueber Angina diphtheroides. Sitz. (Münch. med. Wochenschr. 1902.)
Hofmann und **Küster**, Ein Beitrag zur Bakteriologie der Noma. (Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 1907.)
Jensen, Der Nekrosebacillus. (**Kolle** und **Wassermanns** Handbuch.)
Loeffler, Mitteilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884.
Passini und **Leiner**, Ueber einen Fall von Noma faciei. (Wiener klin. Wochenschr. 1899. p. 743.)
Perthes, Ueber Noma und ihren Erreger. (Arch. f. klin. Chirurgie. 1899. p. 111.)
—, Erfahrungen aus der ärztlichen Praxis bei Chinesen. (Münch. med. Wochenschr. 1902. p. 1968.)
Ranke, Altes und Neues zur pathologischen Anatomie des nomatösen Brandes. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 13.)
Salomon, Bakteriologische Befunde bei Stomatitis und Tonsillitis ulcerosa. (Dtsche med. Wochenschr. 1899. p. 297.)
Schmorl, Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin. Bd. XVII. 1891.)
Seiffert, Aetiologie der Noma. Sitz. (Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1988.)
Veillon und **Zuber**, Recherches sur quelques microbes strictement anaërobies. (Arch. de méd. expérimentale. 1898. p. 517.)

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Fall I. Schnitt der Uvula. Färbung nach **Claudius**. Obj. 3, Ok. I. Mikrophotographie. Oberflächlich die Kokken, nach unten die Nekrosebacillenzone.

Fig. 2. Fall I. Dasselbe Präparat. Obj. 7, Ok. I. Zeichnung. Dichte Anhäufung von Nekrosebacillen an der Grenze des lebenden Gewebes.

Fig. 3. Fall I. Schnitt der Uvula. Methylenblaufärbung. Imm. 2 mm. Komp.-Ok. IV. Zeichnung. Nekrosebacillen mit metachromatischen Körnchen.

Fig. 4. Fall. II. Schnitt der Lippe. Färbung mit **Loeffler**schem Methylenblau. Imm. 2 mm, Komp.-Ok. 8. Zeichnung. Lebendes Gewebe dicht an der Grenze der Nekrose. Zwischen den Zellen Fusiformes und Spirochäten.

Fig. 5. Fall. II. Dasselbe Präparat. Imm. 2 mm, Komp.-Ok. 4. Zeichnung. Bindegewebe mit Spirochäten in Längs- und Querschnitt.

Fig. 6. Reinkultur des B. **fusiformis**. 4 Tage alt. Serumagar. Photographie.

Fig. 7. Stichkultur des B. **fusiformis**. Serumagar. Photographie.

Fig. 8. Kleinste **Fusiformis**-Kolonie. Serumagar. Obj. 5, Ok. II. Zeichnung.

Fig. 9. B. **fusiformis** aus Kultur. Karbolfuchsinfärbung. Imm. 2 mm, Komp.-Ok. 8. Mikrophotographie.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verbreitung des Bacillus enteritidis Gaertner in der Kuhmilch.

Von **E. Klein** in London.

Von 39 Milchproben, die verschiedenen Farmen einer Anzahl von englischen Landbezirken entstammen und die auf Tuberkelbacillen geprüft worden, zeigte sich, daß 10 Proben oder 25,5 Proz. nach Injektion des Milchabsatzes (von je 300 ccm gesammelt) subkutan in die Leiste oder peritoneal bei Meerschweinchen eine chronische Krankheit der Milz hervorriefen, welche Krankheit in der Vergrößerung der Milz und der Anwesenheit in derselben miliarer Knötchen mit eiterigem Zentrum besteht. Die Größe der Knötchen variiert zwischen der eines Stecknadelkopfes und einer kleinen Erbse. Die Meerschweinchen, die mit dem Milchabsatze injiziert wurden, scheinen bei der Tötung — 4 Wochen nach der Injektion — normal zu sein, bei der Obduktion zeigten alle [14 Tiere[1])] die Milz in dem eben beschriebenen Zustande. Die subkutan injizierten hatten keine vergrößerten Inguinaldrüsen und waren auch alle übrigen Organe, mit Ausnahme der Milz, anscheinend normal.

Ausstrichpräparate der Milzknötchen zeigten keine Tuberkelbacillen, auch keine anderen säurefesten Mikroben, doch enthielten sie sehr reichlich ovale bis cylindrische bewegliche Bacillen, die, wie das Kulturverfahren lehrte, einer und derselben Species angehören, nämlich der des Bacillus enteritidis Gaertner[2]). Von allen Tieren wurden von den Milzknötchen ohne weiteres Reinkulturen gewonnen, die untereinander so wie mit dem typischen B. Gaertner durch Abimpfung in die verschiedensten Nährböden verglichen wurden.

Unser aus der Milz gewonnener Mikrobe zeigte sich hochvirulent, indem die subkutane Injektion von $^1/_{50}$—$^1/_{200}$ eines Kubikcentimeters einer einen Tag alten Bouillonkultur Meerschweinchen von 300 g mit Sicherheit akut tötete, mit den bekannten Erscheinungen der lokalen hämorrhagischen Infiltration, der dunkeln, vergrößerten, erweichten Milz; das subkutane, blutige Exsudat, das Herzblut sowie die Milz enthielten die Mikroben in großer Zahl.

Nach Fütterung von Meerschweinchen und Mäusen mit Milchkultur oder Milch, der Bouillonkultur zugefügt wurde, geht die Hälfte der Tiere am 5. Tage ein, das Ileum über der Ileocökalklappe zeigt ausgebreitete Hämorrhagieen, der untere Teil des Ileum mit blutigem Schleim erfüllt.

Was die kulturellen Charaktere unseres Mikroben in den verschiedenen Nährböden anlangt, so sind sie in aller und jeder Hinsicht die des Bacillus enteritidis Gaertner, die nicht einzeln aufgezählt zu werden brauchen, da sie in dem van Ermengemschem Artikel in Kolle und Wassermann zur Genüge bekannt sind. Entscheidend für die Diagnose unseres Milchmikroben sind:

a) blaue Kolonieen auf Drigalski,
b) Bläuung der Litmusmilch,

---

[1]) 4 Proben riefen in beiden Tieren, die übrigen 6 Proben nur in dem peritoneal oder nur in dem subkutan injizierten Meerschweinchen die Krankheit hervor.

[2]) Schnitte durch die Milz zeigten in dem nekrotischen Zentrum große und kleine dichte Gruppen der Bacillen, sowie auch vereinzelt das Zentrum durchsetzend.

c) reichliche lange, dünne, wellige Flagellen wie bei Typhus,

d) entschiedene und rasche Agglutination durch Blutserum eines mit dem typischen B. Gaertner immunisierten Kaninchens.

Daß unser Mikrobe in den Milchproben (zehn verschiedenen Farmen entstammend) nur in sehr beschränkter Zahl vorhanden sein konnte, beweist einmal der Umstand, daß keines der mit dem Milchabsatze injizierten Meerschweinchen (10 subkutan, 10 peritoneal) akut eingegangen, zweitens von den 10 Proben nur 4 in beiden Meerschweinchen, 6 jedoch nur in einem der beiden Tiere die Milzkrankheit bedingte. Experimentell ließ sich ferner nachweisen, daß bei ganz kleinen Dosen ($^1/_{1000}$, $^1/_{2000}$, $^1/_{4000}$ ccm einer einen Tag alten Bouillonkultur) die Tiere nicht akut eingehen, und vom 9. oder 10. Tage an bei der Sektion die allmähliche Entwickelung der eiterigen Milzknötchen aufweisen.

Die üblichen Erkundigungen, die in den betreffenden Farmen angestellt wurden, ließen von erkennbaren Erkrankungen der Kühe nichts eruieren, nur waren überall die Zustände betreffs der Abmilchung der Kühe höchst unrein.

Die Proben wurden durch einen erfahrenen Sanitätsinspektor bei ihrem Anlangen in großen Kübeln in den verschiedenen Bahnstationen in sterile Flaschen gefüllt und direkt ins Laboratorium gebracht. Daß solche Milch, wenn an einem warmen Orte stehen gelassen, oder in der heißen Jahreszeit im rohen, ungekochten Zustande genossen, nicht ohne Gefahr ist, darf als wahrscheinlich angenommen werden.

Nachdruck verboten.

Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Prof. Weichselbaum) in Wien.]

Von Assistent Dr. **Julius Bartel** und Dr. **Robert Stein.**

(Schluß.)

V. Reihe. A. Während in Deckglaspräparaten der frischen Probe Bacillen nur in mäßig reichlicher Zahl als deutlich rot gefärbte, bald segmentierte, bald unsegmentierte Stäbchen zu 3 und 4 beieinander vorhanden waren, finden sich in den Deckgläsern vom 4. Tage (1. Probe) und auch weiterhin Bacillen in größerer Zahl und Gruppen bis 6 und 10 Bacillen mit und ohne Segmentation. Am 20. Tage (6. Probe) ist ein starker Zerfall und braunrote Färbung wahrzunehmen. Diese Befunde haben sich auch in Schnitten bestätigt.

Kulturen auf Tuberkelbacillen waren ergebnislos (das Bouillonröhrchen der frischen Probe und die Agarplatte vom 12. Tage (4. Probe) waren durch Staphyl. alb. verunreinigt).

Die Bacillen der frischen Probe hatten bei intraperitonealer Injektion am Impftier eine allgemeine Tuberkulose mit Verkäsung — Epitheloidzellentuberkel mit Riesenzellen und Verkäsung, Bacillen einzeln oder zu 3 und 4 in spärlicher Zahl als gewöhnlich segmentierte, deutlich rot gefärbte Stäbchen — erzeugt, bei subkutaner Impfung vom 4. Tage resultierte gleicherweise beim Impftier eine allgemeine Tuberkulose die verimpfte Probe vom 7. Tage (2. Probe) und vom 12. Tage (4. Probe) hatten ein gleiches Ergebnis. Das histologische Bild der Tuberkel änderte sich bei diesen letzten Impftieren vom 7. Tage und vom 12. Tage nur insofern, als sich eine reichlichere Anhäufung mono- und polynukleärer Leukocyten, sowie von Kerntrümmern in den zentral verkästen Tuberkeln bemerkbar machte. Die daselbst in den Tuberkeln des Tieres vom 7. Tage spärlich vorhandenen Bacillen zeigten bei starker Segmentierung einen mehr bräunlichroten Farbenton. Weiterhin konnten beim Impftier vom 12. Tage keine Bacillen mehr gefunden werden. Subkutane Verimpfung vom 16. Tage (5. Probe) und vom 20. Tage (6. Probe) blieben ergebnislos.

V. Reihe. B. Auch hier waren die Bacillen in der frischen Probe mäßig reichlich vorhanden und deutlich, sowie vollständig rot gefärbt. Die Zahl blieb weiterhin spärlich bis auf den Befund eines kleinen Häufchens von 15—20 Bacillen im Deckglas vom 9. Tage (3. Probe). Mit der Zeit wurden die Bacillen stark segmentiert, färbten sich blaßrot, gelegentlich auch rotbraun und zeigten vom 16. Tage (5. Probe) an einen bröckligen Zerfall. Die Schnitte bestätigten die Deckglasbefunde, doch gelang es hier nicht, Bacillen an einer Stelle in größerer Zahl zu finden.

Mit Ausnahme einer Kolonie des Staphylococcus pyogenes albus auf der Agarplatte der frischen Probe blieben sämtliche Kulturen steril.

Die Bacillen der frischen Probe hatten in der Leber teilweise Nekrose der Leberzellenbalken, teilweise Epitheloidzellentuberkel mit Verkäsung erzeugt, als Teilbefund einer Allgemeintuberkulose. Die Verimpfung eingetrockneten Materials vom 4. Tage (1. Probe) ergab bei subkutaner Inokulation ein käsiges Infiltrat der Injektionsstelle und Tuberkulose mit Verkäsung der regionären Lymphdrüsen, an der Injektionsstelle Riesenzellentuberkel mit stellenweise dichter Anhäufung polynukleärer Leukocyten und beginnender Organisation in den erweichten Herden sehr spärlich segmentierte Bacillen, in den Lymphdrüsen gleichfalls in eitriger Einschmelzung begriffene konfluierende Herde, die in den nicht erweichten, peripheren Partieen mit mono- und polynukleären Leukocyten untermischte epitheloide Zellen zeigen. Alle weiteren Tierversuche blieben ergebnislos.

VI. Reihe.

A. Milz des Impftieres V. Reihe, A, 1. Probe.
B. Milz des Impftieres V. Reihe, A. 2. Probe.

Von beiden Impftieren wurde die Milz in eine Petrischale gegeben und durch eine Stunde der Wirkung strömenden Dampfes im Sterilisator ausgesetzt. Die Organe blieben ungeteilt. Nach Entnahme aus dem Dampfapparat wurden die Organe in Teilstücke zerlegt und dieselben analog den bisher behandelten Proben verarbeitet.

A.

Frische Probe (vor der Behandlung im Dampfapparat) s. Befund bei V. Reihe, A, 1. Probe.

Probe nach Behandlung mit strömendem Wasserdampf 12. Juli 1904.

1) Deckglas: spärlich braunrote, stark segmentierte Tuberkelbacillen.

Histologischer Befund: In der Milz erscheinen die Kerne noch intensiv mit Hämalaun gefärbt. Einzelne Zellen sind jedoch nicht mehr unterscheidbar.

In einem Tuberkel fanden sich mäßig reichlich zu zweien gelagerte, stark segmentierte, etwas rötlichbrau gefärbte Tuberkelbacillen.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch.

a) Sektionsbefund: Subkutane Injektion rechte Bauchseite, 55. Tag (5. Septbr. 1904). Tier in gutem Ernährungszustand.

b) Sektionsbefund: Intraperitoneal 55. Tag (5. Septbr. 1904). Tier im Wachstum zurückgeblieben. Am Lungenhilus befindet sich ein bohnengroßer derber Knoten. Histologisch zeigt derselbe eine fibröse Beschaffenheit. An einzelnen Stellen enthält er Herde dicht angehäufter polynukleärer Leukocyten. Einzelne Knorpelstücke erscheinen frei in solche Eiterherde eingelagert. Riesenzellen finden sich im fibrinösen Gewebe in mäßig reichlicher Zahl eingelagert.

B.

Frische Probe (vor der Behandlung im Dampfapparat) s. Befund bei V. Reihe, A, 2. Probe.

Probe nach Behandlung mit strömendem Wasserdampf 12. Juli 1904.

1) Deckglas: keine Tuberkelbacillen nachweisbar.

2) Histologischer Befund: Gewebe analog beschaffen wie VI. Reihe, A, nach der Behandlung im strömenden Wasserdampf.

In einem Tuberkel fand sich ein stark segmentierter braunrot gefärbter Tuberkelbacillus.

3) Kultur. Befund: steril.

4) Tierversuch.

a) Sektionsbefund: Subkutan rechte Bauchseite 55. Tag (5. Septbr. 1904). Tier in gutem Ernährungszustand.

b) Sektionsbefund: Intraperitoneal 55. Tag (5. Septbr. 1904). Tier in gutem Ernährungszustand.

VI. Reihe. Die im tuberkulös veränderten Gewebe durch Einwirkung strömenden Dampfes durch eine Stunde abgetöteten Tuberkelbacillen haben weder bei subkutaner noch auch bei intraperitonealer Injektion Veränderungen hervorgerufen. Die Impftiere befanden sich dabei in gutem Ernährungszustande. Der Knoten am Lungenhilus des Impftieres kann nach dem Sektionsbefund nicht auf die Impfung zurückgeführt werden, muß vielmehr als ein zufälliger Befund betrachtet werden, der die eindeutige Entscheidung über den Sektionsbefund nicht beeinflussen kann.

Stamm 4.

VII. Reihe.

Die tuberkulösen Organe, die den Ausgangspunkt dieser Reihe bildeten, entstammten einem Meerschweinchen, das folgenden Obduktionsbefund bot:

Bei intraperitonealer Injektion von Kulturmaterial aus den Halslymphdrüsen eines mit Tuberkelbacillen von sehr schwacher Virulenz gefütterten Kaninchens zeigte das Meerschweinchen am 99. Tage folgende Veränderungen.

Verkäsung in den vergrößerten rechtsseitigen Inguinallymphdrüsen, desgleichen der bronchialen Lymphdrüsen, in der stark vergrößerten Milz zahlreiche bis hanfkorngroße verkäste Herde, in Lunge und Leber zahlreiche kleine grüne Tuberkel, Tier in verhältnismäßig gutem Ernährungszustand.

Die tuberkulös veränderten Organe dieses Tieres wurden verrieben und teils sofort an ein Meerschweinchen subkutan, zum anderen Teil nach $^3/_4$-stündigem Kochen — Einstellen des mit Bouillon verriebenen Materials in einer Eprouvette in kochendes Wasser — an zwei Meerschweinchen verimpft. 16. Septbr. 1904.

1. Sektionsbefund des mit virulentem Material geimpften Meerschweinchens; subkutane Impfung 39. Tag (25. Oktober 1904).

Tier in gutem Ernährungszustande, rechts in inguine ein über haselnußgroßer Tumor, bestehend aus mehreren fast völlig verkästen Lymphdrüsen, am rechten Muscul. psoas eine erbsengroße verkäste Lymphdrüse, die Milz auf das Vielfache vergrößert, von zahlreichen kleineren und größeren verkästen Herden durchsetzt, zahlreiche gleichfalls verkäste Knötchen der Leber und grüne Tuberkel beider Lungen, die Bronchiallymphdrüsen vergrößert, derb, mit verkästen Herden, die Mesenteriallymphdrüsen vergrößert, ohne deutliche Zeichen von Tuberkulose.

2. Sektionsbefund der mit abgetötetem Material geimpften Meerschweinchen: intraperitoneale Impfung 38. Tag (24. Oktober 1904). Tier in gutem Ernährungszustand, keinerlei Veränderungen.

Subkutane Impfung 38. Tag (24. Oktober 1904). Tier in gutem Ernährungszustand, keinerlei Veränderungen.

VII. Reihe. Abtötung von in tuberkulös veränderten Organen eingeschlossenen Tuberkelbacillen durch $^3/_4$-stündiges Kochen in siedendem Wasser bewirkte, daß Impfversuche mit dem so behandelten Material durchweg negative Resultate ergaben. Die Impftiere blieben stets gesund und befanden sich in gutem Ernährungszustand. Demgegenüber zeigte das Kontrolltier, geimpft mit nicht abgetötetem Material gleicher Herkunft, ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen.

Ueberblicken wir nunmehr unsere Ergebnisse, so kommen wir zu folgenden Resultaten:

Was zunächst die Frage einer Vermehrung von Tuberkelbacillen unter den zu Grunde gelegten Verhältnissen betrifft, so können wir hier keine sichere Entscheidung treffen. In mehreren Fällen — I. Reihe, 1. Probe vom 4. Tage, V. Reihe, A, 1. Probe vom 4. Tage, und auch die weiteren Proben, endlich V. Reihe, B, 3. Probe vom 9. Tage — machten wir Beobachtungen teils in Deckglas-, teils in Schnittpräparaten, die den Gedanken einer stattgefundenen Vermehrung nahelegen können. Andererseits sahen wir, wie Bacillen allmählich sich dem Nachweise entzogen — II. Reihe vom 9. Tage an, III. Reihe vom 14. Tage an. — Allerdings war letzteres der Fall bei Objekten, die von vornherein sehr bacillenarm waren. Beobachtungen über eine etwaige Vermehrung von Tuberkelbacillen post mortem in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe liegen unseres Wissens nicht vor. Versuche einer Anreicherung von Tuberkelbacillen wurden bereits mehrfach angestellt. Wir verweisen hier nur auf Jochmann und Beizke. Doch können wir, da es sich bei diesen Versuchen um eine Anreicherung in Sputis handelt, hier nicht des näheren auf jene Angaben eingehen. Im allgemeinen wird eine postmortale Vermehrung in Sputis behauptet. Wohl fanden wir Angaben über die Dauer der Erhaltung der Virulenz von Tuberkelbacillen in tuberkulösen Organen post mortem, mit welcher Frage wohl auch jene der erhaltenen Vermehrungsfähigkeit zusammenfällt, doch handelt es sich um Versuche an tuberkulösen Organen, die, eingegraben, der Verwesung ausgesetzt waren. So will Schottelius unter so bewandten Umständen in den eingegrabenen tuberkulösen Organstücken noch nach $2^1/_2$ Jahren (!) virulente Bacillen gefunden haben. Petri gelangte bei gleichen Bedingungen zu wesentlich anderen Resultaten, indem er nur bis nach 3 Monaten und 6 Tagen Virulenz der Tuberkelbacillen fand. Lösener fand unter ähnlichen Versuchsbedingungen virulente und lebensfähige Bacillen bis zu 60 Tagen sicher, nach 95 Tagen nicht mehr mit voller Bestimmtheit, nach 123 Tagen dagegen nicht mehr vorhanden. Klein fand, daß nach 7—10 Wochen bei gleicher Versuchsanordnung die Virulenz verloren gegangen war. In getrockneten und zerkleinerten tuberkulösen Organen fand Cadeac und Malet sowie Galtier die Virulenz 38—42 Tage erhalten. Das Verhalten unter den von uns geschaffenen Bedingungen erscheint jedoch nirgends berührt, die Frage einer nachweisbaren Vermehrung wird gleichfalls von den genannten Autoren nicht erörtert. Bei unseren Versuchsbedingungen würde eine Vermehrung ganz gut denkbar sein, da ja ein entsprechendes Nährsubstrat bei einer der Tuberkelbacillenentwickelung zusagenden Temperatur in Dunkelheit und bei Abwesenheit anderweitiger Mikroorganismen vorhanden war; doch wollen wir mit einem sicheren Urteile bei der Inkonstantheit der Befunde zurückhalten.

Für die leichtere Kultivierung scheinen die von uns geschaffenen Verhältnisse keine günstigeren Vorbedingungen ergeben zu haben. Es gelang die Kultur in einem Falle aus dem tuberkulösen Gewebe unmittelbar post mortem — 2. frische Probe. Ferner gelang sie im gleichen Falle aus den tuberkulösen Organen des Impftieres von der 1. Probe vom 2. Tage der gleichen Reihe und endlich von der 1. Probe nach 7 Stunden der IV. Reihe, welche Reihe eine Fortsetzung der II. Reihe bildete. Die Tuberkelbacillen gingen dabei reichlich auf und ließen sich auch leicht weiterzüchten. Der Umstand, daß hier bei sehr schwach virulentem Ausgangsmaterial die Kulturen große Wachstumsenergie zeigten, mag eine weitere Bestätigung bilden dafür, daß Saprophytismus und Parasitismus in umgekehrtem Verhältnis zueinander stehen. So sagt Römer in seiner Arbeit: „Wir haben öfters die Beobachtung machen können, daß die Fähigkeit, unter günstigen Kulturbedingungen fortzukommen, im umgekehrten Verhältnis zur krankmachenden Energie der Bacillen stand, daß also Saprophytismus und Parasitismus einen gewissen Gegensatz bildeten.“

Morphologisch und tinktoriell änderten sich die Tuberkelbacillen in unseren Versuchen insoweit, daß sie mit der Zeit stark segmentiert wurden, bald mehr etwas blaßrot, bald mehr braunrot bei gleichen Färbebedingungen sich tingierten. In den bei Bruttemperatur eingetrockneten Proben zeigten die Bacillen schließlich einen körnigen Zerfall — V B 5. Probe vom 16. und 6. Probe vom 20. Tage. — Gleiche Beobachtungen liegen auch sonst vor, und wir verweisen diesbezüglich auf die bereits oben erwähnte Arbeit von Römer. Die Bacillen der einen Kultur — IV. fr. Probe — zeigten im Deckglas zahlreiche Y-Formen, die den Eindruck echter Verzweigungen machten. Gelegentlich war der eine der Schenkel der Y-Form kürzer, gelegentlich zeigte ein Schenkel der Y-form eine weitere Verzweigung. Segmentierung fand sich an den Bacillen nicht. Gleiche Beobachtungen von Verzweigungen liegen von mehreren Autoren vor. So führt Koppen Jones auf Grund seiner diesbezüglichen Untersuchungen aus: „Mitunter in den Sekreten und immer in älteren Agarkulturen erscheinen fadenähnliche Formen, welche a) nicht septiert sind und zugleich b) mehrere Verzweigungen zeigen.“ Fischel gelangt bei dem Studium schwachvirulenter Bacillen seinerseits zu folgenden Resultaten: „1) Der Kochsche Tuberkelbacillus ist die parasitische Form eines ursprünglich saprophytisch vorkommenden, verzweigte Fäden bildenden Mikroorganismus. Die in gefärbten Präparaten häufig beobachteten, unter einem Winkel voneinander abgehenden Bacillen dürften oft noch Andeutungen der ursprünglichen Zweigbildung sein. 2) Die Artbestimmung ist noch nicht möglich, doch besteht eine Verwandtschaft zwischen dem Actinomyces-Pilz und dem Tuberkelbacillus. 3) Die parasitische Form variiert in dem Sinne, daß die segmentierten Bacillen bald länger, bald kürzer, bald schmäler, bald breiter erscheinen. .... 5) Der Erreger der Tuberkulose ist ein pleomorpher und variabler Mikroorganismus.“ Die unter Punkt 3 von Fischel angeführten Beobachtungen fanden auch wir bestätigt. Beobachtungen über echte Verzweigungen machten Hayo Bruns, Mafucci, Nocard und Roux.

Um weiterhin auf die bei den Impftieren gemachten Erfahrungen einzugehen, so ergibt sich aus denselben, daß die Tuberkelbacillen unter den geschaffenen Bedingungen eine Abschwächung ihrer Virulenz erfahren haben. Einige Zeit hindurch haben die Tuberkelbacillen die Fähigkeit, eine über die Injektionsstelle hinausgehende, i. e. zur Propagation führende Impftuberkulose zu erzeugen, bewahrt. So hat Stamm 1 (I) diese Eigenschaft noch nach 4 Tagen (am 9. Tage nicht mehr), Stamm 2, Milzmaterial (II) bis zum 2. Tage (am 9. Tage ebenfalls nicht mehr). Stamm 2, Netzmaterial (III) bis zum 11. Tage (am 14. Tage nicht mehr). Stamm 3, Milzmaterial V A bis zum 7. Tage bewahrt, während hier gleichfalls nach 9 Tagen keine Allgemeininfektion konstatiert werden konnte. Die Bacillen der Reihe IV — stammend aus der tuberkulösen Milz eines mit Netzmaterial der Reihe III (Stamm 2) vom 9. Tage (I. Probe) infizierten Meerschweinchens — waren so weit abgeschwächt, daß sie nur bis zum 4. Tage über die Impfstelle hinausgehende Infektion bewirkten. Bei dem Umstande, daß das Impftier Stamm 2 II (2. Probe vom 9. Tage) bei subkutaner Impfung schon am 4. Tage danach an Marasmus einging, daher füglich nicht zur Beurteilung des Abschwächungsgrades herangezogen werden kann, ergibt sich, daß schwachvirulente Bacillen unter den obwaltenden Verhältnissen im allgemeinen ungefähr eine Woche die Fähigkeit, eine über die Impfstelle hinausgehende Tuberkulose zu erzeugen, bewahren.

Von den genannten Zeiten an hatten die Bacillen der verschiedenen Stämme soweit eine Virulenzabschwächung erfahren, daß nunmehr bei den Verimpfungen gelegentlich nur eine an die Impfstelle gebundene, also lokalisierte Tuberkulose sich ergab, sei es in Form eines subkutanen Infiltrates oder eines Netzknötchens, je nach der Art der Einverleibung des infektiösen Materiales. Auch bei subkutaner Impfung sich ergebende isolierte Herde der Leber konnten wir bei der bereits mehrfach beobachteten direkten Infektion derselben durch angestochene Venen nur als lokalisierte Tuberkulose betrachten. Bei Stamm 1 fand sich eine lokalisierte Tuberkulose noch nach 30 Tagen (I 6. Probe), bei Stamm 2 nach 24 Tagen (II, 5. Probe) resp. nach 12 Tagen (IV, 5. Probe). Ueber die Zeit von 30 Tagen hinaus haben wir keine Versuche angestellt. Wenn wir unter dieser Zeit an Impftieren negative Befunde erhoben haben, so ist es ebensogut möglich, daß in einzelnen Proben die Bacillen bereits abgestorben sein konnten, oder die tuberkulösen Produkte wegen ihrer Kleinheit übersehen wurden; es ist auch nicht auszuschließen, daß entstandene tuberkulöse Bildungen abgeheilt sein konnten oder auch die Zeit von der Impfung bis zur Obduktion zu kurz war, um augenfällige Veränderungen zu erzeugen. Demgemäß schalten wir auch diese Fälle bei unseren Schlußfolgerungen aus.

Des weiteren zeigte sich, sofern nicht sehr junge Meerschweinchen (3 Wochen alte Tiere, Stamm 2 (IV) sämtliche Proben) zur Verwendung kamen, oder ein zufälliges Accidenz (Peritonitis) eintrat, daß die Impftiere fast durchweg sich in gutem Ernährungszustande befanden und klinisch nicht den Eindruck infizierter Tiere machten.

Besonders wichtig erscheint uns die histologische Beschaffenheit der durch die a priori schon schwachvirulenten und durch die eingeschlagene Versuchsanordnung bis an die Grenze der Virulenz abgeschwächten Bacillen hervorgerufenen spezifischen Veränderungen. Baumgarten, Orth und andere Autoren haben aus der Wirkung des Tuberkelbacillus auf das lebende Gewebe geschlossen, daß demselben eine Einflußnahme nach verschiedenen Richtungen zukomme. Sie unterschieden einmal eine nekrotisierende, des weiteren eine exsudative und endlich eine produktive Komponente.

Nach Baumgarten überwiegen bei Tuberkelbacillen von geringer Menge und Virulenz die Proliferationsprozesse, während bei großen Mengen stark virulenter Bacillen mehr die Exsudationsprozesse in den Vordergrund treten. Er erwähnt hierbei, daß im letzteren Falle der Proliferationsprozeß geradezu umgangen werden kann, der Tuberkel mehr einem Abscesse ähnlich wird. Bei unseren untersuchten Bacillenstämmen zeigten sämtliche tuberkulöse Produkte des Ausgangsmaterials mikroskopisch die Zeichen der Gewebsschädigung nach den genannten drei

Richtungen, indem wir überall neben verkäste Stellen enthaltenden, teilweise peripher fibrösen Epitheloidzellentuberkeln eine wechselnde Zahl von mono- und polynukleären Leukocyten fanden. Bei der durch unsere Versuchsbedingungen hervorgerufenen Abschwächung der Bacillen zeigte sich, daß diese Trias der genannten Eigenschaften nicht in gleichem Verhältnisse erhalten blieb; Stamm 1 zeigte nämlich in der Folge ein Ueberwiegen der produktiven Tendenz, während bei Stamm 2 (Reihe II, III, IV) neben der produktiven die exsudative Komponente stark hervortrat. Stamm 3 nähert sich in seinem Verhalten mehr dem Stamme 2.

Solange die Tuberkelbacillen ihre Eigenschaft, eine über die Impfstelle hinausgehende Tuberkulose zu erzeugen, bewahrt hatten, war keine der drei Wirkungsweisen vollständig verloren gegangen. War jedoch die Abschwächung der Tuberkelbacillen soweit fortgeschritten, daß sich am Impftier nur mehr eine lokalisierte Tuberkulose als Resultat ergab, so zeigte es sich, daß dann eine der genannten Komponenten völlig geschwunden war. Zugleich ließen solche Fälle lokalisierter Tuberkulose deutliche Organisationsvorgänge erkennen.

Die Knötchenbildungen bei diesen an die Injektionsstelle allein gebundenen Veränderungen zeigten fast durchweg eine große Zahl mehrkerniger Zellen, indem in einer oft sehr breiten Protoplasmamasse zwei und mehrere Kerne, manchmal randständig oder unregelmäßig verteilt, eingelagert waren. Diese vorwiegende Bildung von Riesenzellen durch Einwirkung schwachvirulenter Bacillen findet auch anderweitig Bestätigung; so konnte Krompecher durch Injektion einer 6 Jahre auf künstlichen Nährböden gewachsenen Kultur Tuberkel erzeugen, die bloß aus 1—2 Riesenzellen und wenigen Leukocyten bestanden.

Die bei unseren Versuchen entstandenen Lebertuberkel weisen ähnliche Bilder auf, wie sie Miller auf hämatogenem Wege bei Kaninchen erzeugte.

Bacillen, die wir bei zur Propagation führender Tuberkulose stets, wenn auch manchmal in geringer Zahl, nachweisen konnten, waren bei den bloß auf die Impfstelle beschränkten Prozessen nur einmal zu finden. Das bacillenarme Ausgangsmaterial des 2. Stammes — Reihe II, III, IV — erzeugte auch weiterhin bei den Impftieren bacillenarme Tuberkelbildung.

Ueberblicken wir endlich die Obduktionsergebnisse bei Verimpfung schwachvirulenten lebenden Materials einerseits und von durch Hitze abgetöteten Materials gleicher Provenienz andererseits, so finden wir, daß gegenüber der Tuberkulose erzeugenden Fähigkeit des ersteren, letzteres diese Eigenschaft vollständig eingebüßt hatte. Es zeigten die mit abgetöteten tuberkulös veränderten Gewebsstückchen geimpften Meerschweinchen keine auf Grund der Impfung entstandenen spezifischen Veränderungen nund blieben in gutem Ernährungszustande; sie verhielte sich also vollständig normal.

Handelt es sich um vor der Abtötung hochvirulentes Kulturmaterial, so können wir die Frage nach der Wirkungsweise toter Tuberkelbacillen, wie wir schon ausführten, auf Grund der Arbeiten Masurs, Krompechers, Sternbergs und Engelhardts als nahezu entschieden betrachten. Krompecher spricht sich dahin aus, daß hochvirulente tote Bacillen Tuberkulose erzeugen können, die er im Gegensatze zur Infektionstuberkulose, hervorgerufen durch lebende Bacillen als Intoxikationstuberkulose auffaßt. Es wird zwar durch die Einwirkung der Hitze die Lebensfähigkeit der Bacillen zerstört, jedoch bleiben dessen am Bacillenleibe haftenden Gifte erhalten.

„Es ist also, ebenso wie Buchner Gärung ohne Hefezellen erzeugte, möglich, auch tuberkulöse Veränderungen ohne lebende Bacillen hervorzurufen. Diese beiden Prozesse unterscheiden sich jedoch, abgesehen davon, daß die Zymase ihre Eigenschaften bei 120° verliert, auch darin voneinander, daß es nicht gelingt, das toxische Tuberkulose erzeugende Element vom Bacillenleibe zu isolieren. Die Analogie besteht bloß in der Unabhängigkeit der beiden Prozesse vom Leben der Mikroorganismen.“

Versuche, die Krompecher mit einer jahrelang auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten und vor der Verimpfung abgetöteten Kultur anstellte, ergaben durchweg negative Obduktionsbefunde. Krompecher bezeichnet diesen 6 Jahre lang auf künstlichem Nährboden gewachsenen Stamm als avirulent. Auf Grund seiner Beobachtungen an Kulturmaterial fühlt sich der genannte Autor zu dem Schlusse berechtigt, daß der durch tote Bacillen hervorgerufene Effekt verschieden ist, je nach ihrem Virulenzgrad. In einer späteren Arbeit konstatiert Sternberg bei Verwendung hochvirulenten Kulturmateriales, daß durch Hitze abgetötete Bacillen im Tierkörper dieselben Veränderungen hervorrufen können wie lebende.

Einige Differenzen in den Angaben verschiedener Autoren bezüglich der Verkäsung durch hochvirulentes abgetötetes Kulturmaterial erklärt Sternberg aus der größeren oder geringeren Dichtigkeit der verimpften Aufschwemmungen. Des weiteren schließt er, daß die pathogene Wirkung geknüpft ist an eine im Bacillenleibe enthaltene Substanz; dieselbe wird durch hohe Temperatur nicht geschädigt, wohl aber extrahiert oder vernichtet durch Alkohol oder Aether. Es ergibt sich also aus dem vorher Gesagten bezüglich der Verimpfung von Kulturmaterial, daß hochvirulente abgetötete Bacillen Intoxikationstuberkulose erzeugen können, schwachvirulente tote ein vollständig negatives Resultat liefern. Ein Hauptzweck nun unserer Versuche war es, zu prüfen, ob bezüglich der Wirkungsweise nur schwachvirulenter Bacillen, gelangen sie in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe in natürlicher Verteilung eingeschlossen, zur Verimpfung, das Gleiche gilt, was nach den Untersuchungen Krompechers an lebendem und totem schwachvirulentem Kulturmaterial beobachtet wurde. Es erschien uns eine Klärung dieser Frage insofern von Bedeutung, als es dann möglich wäre, aus positiven Impfbefunden — in erster Linie lokalisierten Tuberkelbildungen — nach Inokulation von Organteilen, stammend aus mit schwachvirulenten Bacillen infizierten Versuchstieren, die Anwesenheit lebender Erreger mit Bestimmtheit zu erschließen zu können.

Unsere Schlußfolgerungen lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

„Eine Vermehrung von Tuberkelbacillen post mortem in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe bei Abwesenheit anderer Mikroorganismen unter den günstigen Temperaturbedingungen von 37° und in feuchter Kammer erscheint uns nur wahrscheinlich.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Die weitere Frage, ob durch die in unseren Versuchen gesetzten Verhältnisse günstigere Kulturbedingungen geschaffen werden können, konnten wir nicht in positivem Sinne entscheiden, wiewohl uns die Kultivierung gelegentlich leicht gelang.

Morphologische Veränderungen, wie Segmentierung, körniger Zerfall, Verzweigung, bald mehr plumpe, bald schlanke Bacillenformen, sowie Aenderungen des färberischen Verhaltens — blaßroter oder mehr braunroter Farbenton — waren wir gleichfalls in der Lage zu konstatieren.

Ferner glauben wir uns dahin aussprechen zu können, daß bezüglich der Wirkungsweise schwachvirulenter lebender und toter Tuberkelbacillen, sind dieselben in dem von ihnen spezifisch veränderten Gewebe in natürlicher Verteilung eingeschlossen, das Gleiche gilt, was Krompecher bezüglich schwachvirulenten lebenden und toten Kulturmateriales gefunden hat, nämlich:

Schwachvirulente abgetötete Tuberkelbacillen in den von ihnen spezifisch veränderten Organen in natürlicher Verteilung eingeschlossen, sind nicht im stande, am Impftiere Veränderungen spezifischer Natur oder auch nur Marasmus zu erzeugen.

Findet man infolgedessen bei Impftieren, die lediglich mit sicher schwachvirulenten Bacillen infiziert wurden, Tuberkelbildungen, so kann man aus denselben, auch wenn es sich nur um lokalisierte Tuberkulose handelt, auf die Anwesenheit lebender Erreger schließen, wenn auch von sehr herabgesetzter Virulenz und von geringer Zahl. Durch fortgesetzte Abschwächung gelang es uns, Tuberkel zu erzeugen, die fast ausschließlich aus Riesenzellen bestanden; ausgesprochene Verkäsung sahen wir dann nur ausnahmsweise; auch Bacillen waren nur gelegentlich noch nachzuweisen.

Zugleich konstatierten wir an lokalen tuberkulösen Produkten Ausheilunsprozesse.

Ueber die histologischen Veränderungen in den bei 37° und der Einwirkung der feuchten Wärme, sowie der eingeschlossenen Tuberkelbacillen ausgesetzten tuberkulös veränderten Gewebsstückchen wollen wir hier nur so weit uns aussprechen, daß wir die charakteristische Struktur der Gewebe noch nach 31 Tagen — unsere längste Beobachtung — erhalten fanden. Wohl trat mit der Zeit ein Kernzerfall ein und es fanden sich dann im Gewebe verteilt zahlreiche intensiv mit Kernfarbstoffen färbbare Kerntrümmer; hochgradigere Veränderungen des Gewebes machten sich mit der Zeit in einer schmalen Randzone des Organstückchens bemerkbar, indem daselbst die Kerne ihre Färbbarkeit verloren und das Gewebe dann einen mehr gleichmäßigen Eosin-Farbenton annahm. Diese Erscheinung in den Randpartieen ist wohl auf den Einfluß der Flüssigkeit, in der die Stückchen nach einiger Zeit schwimmend vorgefunden wurden, zurückzuführen, und nicht auf Rechnung der Tuberkelbacillen zu setzen.

Eine Zunahme des verkäsenden Prozesses in den Tuberkeln konnten wir nicht sehen. Auch in jenem Falle, wo wir das Gewebe bei 37° der Austrocknung aussetzten, blieb die Kernfärbung und Struktur leidlich erhalten. **Der postmortale Einfluß der spärlich vorhandenen Tuberkelbacillen auf das Gewebe scheint demnach ein außerordentlich geringer zu sein.** Es stimmen unsere Beobachtungen mit denen Goldmanns überein, welche der genannte Autor an aseptisch aufbewahrten Gewebsstückchen anstellte.

Auch von Külbs, der Tuberkelbacillenaufschwemmungen in die Venen steril herauspräparierter Kaninchennieren injizierte, wurde diese Tatsache bestätigt.

Literatur.

Bartel, Die Infektionswege bei der Fütterungstuberkulose. (Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 15.)

Baumgarten, Ueber die pathologisch-histologische Wirkung und Wirksamkeit des Tuberkelbacillus. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 44, 45, 46.)

— Centralbl. f. klin. Med. 1884.

Beitzke, H., Die Anreicherungsverfahren zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum. (Hyg. Rundsch. Bd. XII. 1902.)

Bruns, H., Ein Beitrag zur Pleomorphie des Tuberkelbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVII. No. 23.)

Cadeac et Malet, Sur differents modes de transmission de la tuberculose. (Congrès pour l'étude de la tuberculose. 1888. p. 310.)

Coppen Jones, A., Centralbl. f. Bakt. Bd. XVII. 1895.

Engelhardt, Histologische Veränderungen nach Einspritzung abgetöteter Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. 1902.)

Fischel, Fr., Zur Morphologie und Biologie des Tuberkuloseerregers. (Berl. klin. Wochenschr. 1893. No. 41.

Galtier, Dangers des matières tuberculeuses, qui ont subi la dissecation, le contact prolongé de l'eau etc. (Compte rendu de l'Académie des sciences. 1887.)

Goldmann, Ueber die morphologischen Veränderungen aseptisch aufbewahrter Gewebsstücke. (Fortschritte der Medizin. 1888.)

Jochmann, G., Das biologische Anreicherungsverfahren bei der Untersuchung auf Tuberkelbacillen. (Hyg. Rundschau. 1902. No. 11.)

Kelber, E., Wirkung toter Tuberkelbacillen. (Arbeiten aus dem patholog. Inst. zu Tübingen.)

Krompecher, Recherches sur le traitement des animaux tuberculeux par la methode de Landerer et sur la virulence des bacilles tuberculeux. (Annales de l'Institut Pasteur. 1900.)

Klein, E., Zur Kenntnis des Schicksals pathogener Bakterien in der beerdigten Tierleiche. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899.)

Külbs, eingesendet der Zeitschr. f. Heilkunde.

Loesener, Arbeiten aus dem kais. Ges.-Amt. Bd. XII. 1896.

Mafucci, Die Hühnertuberkulose. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XI.)

Masur, Zur Kenntnis von der Wirkung toter Tuberkelbacillen. (Zieglers Beitr. Bd. XVI. 1894.)

Miller, Zur Histogenese des hämatogenen Tuberkels in der Kaninchenleber. (Zieglers Beitr. 1902.)

Nocard und Roux, Annales de l'Institut Pasteur. 1887.

Orth, Welche morphologischen Veränderungen können durch Tuberkelbacillen erzeugt werden? (Verhandl. d. deutschen pathol. Gesellsch. Hamburg 1901.)

Petri, Versuche über das Verhalten der Bakterien der Tuberkulose in Tierleichen. (Arb. a. d. kais. Ges.-Amt. Bd. VII. 1894.)

Roemer, Tuberkelbacillenstämme. (Beitr. z. experim. Therapie. Bd. VI. 1903.)

Schottelius, Ueber das Verhalten der Tuberkelbacillen im Erdboden. (62. Versammlung deutscher Naturf. u. Aerzte. Heidelberg 1890.)

Sternberg, C., Wirkung toter Tuberkelbacillen. (Centralbl. Bd. XIII. 1902.)

Nachdruck verboten.

Einige Untersuchungen über die Tuberkulose der Reptilien.

[Aus dem hygienischen Institut der Königl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Paglioni).]

Von Dr. **E. Bertarelli,** Privatdozenten und Assistenten.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

Die Tuberkulose der Reptilien ist nur sehr selten beobachtet worden, und was die spontane Tuberkulose anbetrifft, so liegt da meines Wissens nur der Fall Friedmanns[1]) vor. Dieser Forscher beobachtete, wie bekannt, bei 2 Schildkröten einen tuberkulösen Prozeß, welcher von einem von ihm ausführlich beschriebenen Keim hervorgerufen worden war, welch letzterer in verschiedener Hinsicht an den Tuberkelbacillus der Säugetiere erinnert.

Auch bezüglich der experimentellen Tuberkulose der Reptilien ist mir außer den Versuchen Friedmanns mit der Schildkröte keine andere Uebertragung eines solchen Infektionsprozesses bekannt geworden.

Ebensowenig finden sich in der kürzlich erschienenen, synthetischen und experimentellen Studie Herzogs[2]) über die Tuberkulose der Kaltblüter Andeutungen über künstliche oder natürliche Tuberkulose der Reptilien.

Eine derartige Nachforschung entspricht heute aber keiner einfachen, biologischen Neugierde mehr, sondern hat eine weit über diese Grenzen hinausgehende Bedeutung erworben.

Sehen wir auch von dem Interesse ab, das die Frage bietet, ob nämlich die Reptilien für eine Tuberkuloseinfektion empfindlich sind, ob die tuberkulösen Formen dieser Wirbeltiere an die der Säugetiere erinnern, und lassen wir dann auch all das beiseite, was bei diesen Fragen ausschließlich an die Biologie geknüpft ist, so hat die Tuberkulose der Reptilien nach den kürzlichen Mitteilungen Friedmanns und Möllers doch ein unserer vollsten Beachtung würdiges Bild angenommen.

Allgemein ist bekannt, wie es Friedmann[3]) gelungen ist, Meerschweinchen und, wie es scheint, auch andere Tiere mit Hilfe des bei Schildkrötentuberkulose isolierten Bacillus gegen die Tuberkulose der Säugetiere aktiv zu immunisiereren. Möller[4]) dagegen behauptet, das Meerschweinchen erfolgreich gegen Säugetiertuberkulose geimpft und zur aktiven Immunisation die ersten der von ihm gefundenen, zuerst aber durch die Blindschleiche passierten säurefesten Bacillen verwandt zu haben.

Auf das von diesen beiden Forschern verfolgte Verfahren, auf die Ergebnisse ihrer Immunisationsversuche und auf die dadurch hervorgerufenen Erörterungen näher einzugehen, ist mir hier nicht gestattet.

---

1) Friedmann, F. F., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV, sowie Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. IV.

2) Herzog, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI. 1902, sowie Bd. XXXIV. 1903. Ebenda findet sich die bedeutendste Literaturzusammenstellung über die Tuberkulose der Kaltblüter.

3) Friedmann, F. F., Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 50, sowie 1904. No. 5.

4) Möller, Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. V.

Es genügt, an dieser Stelle zu bemerken, daß die von **Friedmann** erhaltenen Ergebnisse derart zufriedenstellend waren, daß seine Methode im Begriffe steht, im Handel weitgehende Verwendung zu finden, was auch zuverlässige Kritiker nicht abzuraten scheinen. Die neuesten Mitteilungen **Friedmanns**[1]) bestätigen die gehegten Erwartungen vollständig und erwecken den Glauben, daß die Immunisation gegen die Tuberkulose damit in eine neue Periode eingetreten ist[2]).

Das Studium der biologischen und praktischen, mit dem Problem der Reptilientuberkulose zusammenhängenden Seiten wird somit äußerst bedeutungsreich.

Abgesehen von wenigen Varietäten von Schildkröten und Eidechsen, sind nun in unseren Gegenden die Reptilien so spärlich vertreten, so klein und von so beschränkter Lebensfähigkeit, daß die betreffenden Nachforschungen wegen Materialmangels nur schwer durchgeführt werden könnten. Ein glücklicher Zufall aber setzte mich in die Lage, über ein äußerst reiches Studienmaterial zu verfügen, denn, dank dem freundlichen Entgegenkommen und der wissenschaftlichen Einsicht des Herrn Prof. Grafen **Peracca**, welcher in Turin des Studiums und Vergnügens halber eine unübertroffene Sammlung lebender Reptilien aus warmen Ländern besitzt, war es mir möglich, mich eben dieses Materials bedienen zu können. Ich hatte so auch die Gelegenheit, mit verschiedenen großen Reptilien Versuche anzustellen und verschiedene andere zu sezieren. Und die ersten damit erhaltenen und im nachstehenden kurz zusammengefaßten Ergebnisse legen uns ohne weiteres den Gedanken nahe, daß auf diesem Gebiete der Pathologie der Tuberkulose noch interessante Tatsachen und Beobachtungen angesammelt werden können.

Vor allem war es mir darum zu tun, die Infizierung der Reptilien mit Menschen- und Hühnertuberkulose zu studieren.

Wer sich die Formen und die Züchtungseigentümlichkeiten des von **Friedmann** aus der Schildkröte isolierten Tuberkulosekeims vergegenwärtigt, wird sehr leicht dahin gebracht werden, anzuerkennen, daß die Form der Schildkrötentuberkulose der des Menschen außergewöhnlich nahe und vielleicht auch gleichkommt. Die Unterschiede in der Leichtigkeit, mit der bei relativ niedereren Temperaturen Züchtungen vorgenommen werden können, könnten logischerweise eventuell auch als eine Veränderung des Anpassungsvermögens aufgefaßt werden, die der Keim während seines Aufenthaltes im Tierorganismus erfährt. Und daran kann um so leichter gedacht werden, als der **Friedmann**sche Tuberkulosebacillus auch bei 37° gut gedeiht.

Meine ersten Versuche wurden an 2 prächtigen Exemplaren von *Varanus varius* (Shaw) vorgenommen. Es waren dies 2 ca. 1,15 m lange, aus Südost-Australien gekommene Tiere, die seit mehreren Jahren in Gefangenschaft gelebt und sich dem Leben im Käfig ziemlich gut angepaßt hatten. Sie waren zumeist Fleischfresser und befanden sich in guten

---

[1]) **Friedmann**, F. F., Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 46.

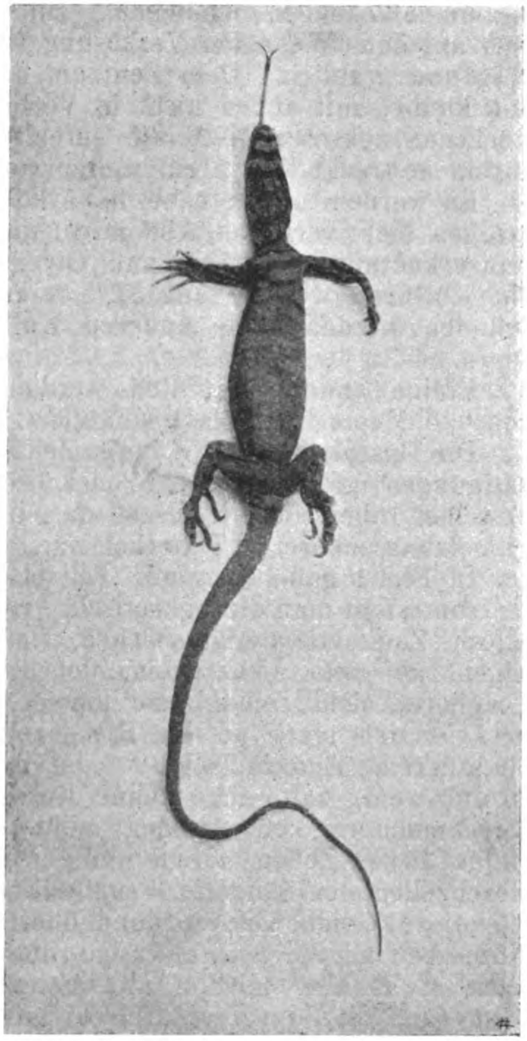
[2]) Meine Arbeit war schon in Druck gegeben, als die Veröffentlichung von **Bilbert** und **Ruppel** erschien (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 4 u. 5), in der die Ergebnisse **Friedmanns** heftig angegriffen werden und behauptet wird, daß der Tuberkelbacillus der Schildkröte die Säugetiere nicht gründlich immunisiert, und bei Injektion von großen Quantitäten einer pathogenen Wirkung nicht entbehrt. **Friedmann** hat auf diese Kritik geantwortet und wird auch weiterhin auf diese Angriffe antworten.

Gesundheitsverhältnissen. Sehen wir dann ab von der Notwendigkeit, den Boden des von ihnen bewohnten Käfigs stets auf ca. 20° halten zu müssen, so verlangten sie weiterhin keine besonderen Rücksichten.

Im März 1904 wurde je einem *Varanus* eine Hühnertuberkulose- und eine Menschentuberkulosekultur injiziert, und zwar subkutan. Die Menschentuberkulosekultur war sehr wenig aktiv, obgleich der betreffende Keim aus dem Sputum eines Schwindsüchtigen isoliert worden war. Die Hühnertuberkulose kam von Král.

Die Dosen des verwandten Kulturmaterials waren ziemlich stark, aber trotzdem war das Ergebnis negativ. Nach länger als einem Monat wurde die Inokulation wiederholt, wiederum aber zeigten sich auch bei Betastung nicht die geringsten Krankheitserscheinungen.

Im Juni 1904 nahm ich ohne weiteres an einem der Varani die Injektion einer kleinen Quantität eines von einem Schwindsüchtigen herrührenden Sputums vor. Zu dieser subkutanen Inokulation dienten 0,2 ccm einer bacillenreichen Sputum-Bouillonemulsion. Nach ca. einem Monate zeigte sich an der Inneststelle ein deutliches, maiskorngroßes Knötchen, das allmählich bis zur Größe einer kleinen Kirsche anwuchs. Das umliegende Gewebe sah wie infiltriert aus und fühlte sich hart an. Im August begann das Tier jede Speiseaufnahme zu verweigern und blieb trotz der hohen Temperatur niedergeschlagen im Käfig, ohne die gewohnte Lebhaftigkeit an den Tag zu legen.



Varanus rarius.

Im September kommt der Kräfteverfall noch deutlicher zum Ausdruck, das Tier sieht stark abgemagert aus. Gegen Ende September bewegt es sich überhaupt nicht mehr, so daß man es ohne Vorsichtsmaßregeln berühren und stechen kann.

Das Hautknötchen erschien wie vergrößert und ringsherum dehnte die sich bei Druck hart anfühlende Infiltrationszone stets weiter aus. In den ersten Oktobertagen wurde das Tier getötet.

Bei der Autopsie ergab sich der nachfolgende interessante Befund: Herz und Lungen gesund. In der Bauchhöhle beobachtete man vergrößerte, glänzende, perlige Gekröseganglien. Einige davon sind deutlich verkäst, andere aber zeigen sich gerade so schnittresistent, wie wenn sie fibrös wären. Auch einige wenige prävertebrale Ganglien sind vergrößert und grau. Die Nieren, die Milz und die Eileiter sind normal. Die Leber weist hie und da einige kleine, rundliche, nicht genau abgegrenzte, weißliche Flecken auf.

Auf der Haut, und zwar nahe bei der Einführungsstelle, beobachtet man das Vorhandensein nicht genau abgegrenzter und untereinander zusammenfließender Knötchen. Einige befinden sich allem Anschein nach auf dem Wege der Verkäsung, andere dagegen sind widerstandsfähig und graulich. Dem Zentrum der Knötchenmasse zu bemerkt man eine kleine, mit außen nicht in Verbindung stehende, aber ein kleines Stückchen nekrotischer Masse enthaltende Höhlung. Die Knötcheninfiltration erstreckt sich 5 cm weiter vom Sitz des Innestes.

Es werden nun Stücke in Alkohol und Sublimat fixiert und mit wenigen nicht verkästen Abdominalganglien dann nach vorhergegangener Feinzerknetung Kulturen auf Glycerinagar und Blutagar hergestellt. Die Kulturen werden auf 37° belassen; aus von mir unabhängigen Gründen werden keine anderen Kulturen in anderer Temperatur belassen.

Einige andere Ganglien werden subkutan und in verschiedenen Dosen 6 Meerschweinchen inokuliert.

Die histologische Prüfung der Stücke hat zu interessanten Bestätigungen geführt. Mehr oder weniger boten alle Ganglien einen typischen tuberkulösen Absceß dar, der zuweilen das Ergebnis der Verschmelzung mehrerer Tuberkel war.

In Fig. 1 habe ich einen Teil eines dieser Ganglien dargestellt. Im Zentrum sieht man die nekrotische, verkäste Masse und ringsherum einen wahren Zaun von umfangreichen, vielkernigen Zellen. Einige derselben zeigen zahlreiche dicht aneinander liegende Kerne, die überdies an der Peripherie nicht reihenweise angeordnet sind. Diese Zellen erinnern nun ziemlich stark an die Riesenzellen der tuberkulösen Prozesse bei Säugetieren. Andere Zellen wiederum sind zwar vielkernig, doch haben sie nur wenig zahlreiche kleine Kerne und scheinen zuweilen von der Verschmelzung von 2 oder mehr epithelioiden Zellen herzurühren. Einige dieser Zellen haben weniger Aehnlichkeit mit den tuberkulösen Riesenzellen der Säugetiere (und dieses ist gerade bei Fig. 1 der Fall). Alle diese Zellen weichen dann überdies von den unter denselben Verhältnissen bei Säugetieren angetroffenen hinsichtlich ihrer allgemeinen Form etwas ab, sind im allgemeinen mehr länglich und fallen ihrer Form nach oft mit einer dreieckigen Figur zusammen; die Kerne sind zahlreich, relativ groß, in einigen Ausnahmefällen füllen sie auch den Zentralteil des Zellkörpers aus. Inmitten der Riesenzellen und um die von ihnen besetzten Zonen herum beobachtet man lymphoide Zellen, die sich nach außen hin anhäufen und so die Tuberkel genau abgrenzen. Die epithelioiden Zellen sind dagegen weniger zahlreich und fehlen zuweilen fast vollständig. Um die Tuberkel herum und auch in ihrem peripherischen Teile können mit dem Pappenheimschen Verfahren Plasmazellen in mäßiger Zahl sichtbar gemacht werden.

Ich habe an den Schnitten zwecks Auffindung von Tuberkelbacillen alle Kunstmittel in Anwendung gebracht, trotzdem aber war es mir nicht möglich, in den Tuberkeln oder um dieselben herum irgendwelche Art von Bacillenformen wahrzunehmen. Säurefeste Bacillenformen fehlten ebenso ganz und gar in allen geprüften Ganglienschnitten, und es wäre überflüssig, hinzuzufügen, daß schließlich ebenso auch jede andere Bakterienform fehlte. Es darf jedoch dabei nicht vergessen werden, daß die zur mikroskopischen Prüfung herangezogenen Ganglien gerade die am meisten in Verkäsung befindlichen waren, während die sehr wenigen nicht verkästen Ganglien zur Herstellung der Kulturen und Inokulation der Meerschweinchen dienten.

In den anderen der Untersuchung unterworfenen Organen werden keine bemerkenswerten Verletzungen angetroffen, wenn wir absehen von der Leber, in der wir eine beschränkte Zone in Nekrobiose befindlicher Leberzellen antreffen. In der Milz fehlen die Tuberkel, dagegen finden sich da überaus zahlreiche eosinophile Leukocyten vor, die weite Milzzonen vollauf ausfüllen. In der Haut sind die tuberkulösen Verletzungen stärker hervorgetreten, was auch noch ziemlich weit von der Inneststelle entfernt deutlich der Fall ist.

Man sieht da wirkliche Tuberkel mit verkästen Zonen im Zentrum und spärlichen Riesenzellen an der Peripherie, während ringsherum eine von kleinzelligen Elementen infiltrierte Zone zum Vorschein kommt. Dabei fehlen diesen Tuberkeln jedoch immer genaue Abgrenzungen. Die Riesenzellen werden dann in geringer Anzahl überall in den tiefen und Oberflächenschichten angetroffen. Sie erinnern in jeder Hinsicht an die von Friedmann bei der Schildkröte beobachteten, haben zwar verschiedene Formen und Durchmesser, neigen aber im allgemeinen zur fast ovalen, unregelmäßigen Form hin.

Färbt man die Schnitte mit Ziehlscher Lösung, so werden in fast allen Riesenzellen säurefeste Bacillenformen sichtbar, die in jeder Hinsicht an den Tuberkelbacillus erinnern. Uebrigens kann betreffs dieser Reptilien nicht der Zweifel bestehen, der gelegentlich der Tuberkulose des Frosches[1]) zum Ausdruck gebracht wurde, daß nämlich die in der Milz und in anderen Organen angetroffenen säurefesten Bakterienformen Formen von gewöhnlichen, mit den Nahrungsmitteln dem Körper einverleibten und dann zufällig in den Organismus eingetretenen säurefesten Substanzen darstellen, denn die Kulturen haben, wie wir weiter unten sehen, jeden diesbezüglichen Zweifel gehoben.

Einige Keime werden auch frei zwischen den Elementen angetroffen. Was dabei aber am meisten interessiert, ist der Umstand, daß man ganz besonders in den Riesenzellen zuweilen das gewöhnliche Maß an Länge weit überschreitende, etwas gewundene oder gebogene Bacillenformen zu sehen bekommt, welche von der Form, die der Bacillus in dem zur Inokulation des *Varanus* verwandten Sputum innegehabt hatte, bedeutend abstechen.

Fig. 2 stellt eine dieser Riesenzellen mit länglichen Keimformen dar.

Verzweigte Formen habe ich nicht beobachtet. Hie und da aber traten sehr dichte Massen Tuberkelbacillen zu Tage, die verschiedenartig untereinander vermengt sind und zuweilen den Bacillenkörper an Dicke übertreffende Enden besitzen.

Mit anderen Worten gesagt, lassen die durch den Bacillus bei diesen kutanen Lokalisationen gegebenen Bilder den Gedanken an eventuelle involutive, ganz besonders durch die Verlängerung der typischen Bacillenform gekennzeichnete Formen nahe treten.

---

1) Dieser Zweifel ist schon von verschiedenen Verfassern erhoben worden und findet eine indirekte Bestätigung auch in der kürzlich erschienenen Arbeit von A. Weber und Taute: Zur Frage der Umwandlung der Tuberkelbacillen im Kaltblüterorganismus. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 28.)

Die mit den wenigen, nicht verkästen Ganglien angefertigten Kulturen wurden auf 37° gehalten. In einigen Kulturen fassenden Röhrchen beobachtete man 10 Tage nach dem Innest kleine, trockene, krustenartige Kolonieen, die in den folgenden Tagen indes nur wenig Neigung zeigten, sich auszubreiten. Es ergab sich, daß die Kolonieen selbst aus säurefesten, vollauf an den Tuberkelbacillus erinnernden Bacillen bestanden (siehe Fig. 3), die jedoch bedeutend kürzer waren als die in der Haut angetroffenen. Die nachfolgenden Uebertragungen bei 37° und 27° waren nicht im geringsten lebensfähig. Es kam eine Entwickelung sehr kleiner Kolonieen zustande, welche nach der dritten Uebertragung ihre Vitalität vollständig verloren.

Von den mit Ganglienmaterial inokulierten Meerschweinchen verendeten 2 am 3. Tage ohne dem Tuberkelbacillus zuschreibbare Prozesse, die anderen 4 blieben am Leben.

Im November wurde eines derselben getötet, wies aber nur ein sehr kleines Knötchen an der Innestselle auf. Den anderen 3 für gesund erkannten Meerschweinchen wurden im November kleine Quantitäten tuberkulösen Auswurfs inokuliert, und es sei schon hier gesagt, daß bei allen eine Tuberkuloseinfektion eintrat, an deren Folgen sie zu Grunde gingen.

Eben diese Kulturen wurden, wenn auch in geringer Quantität, und dies eben, weil das Wachstum der Kulturen sehr schwach war, anderen 4 Meerschweinchen injiziert, doch war der Erfolg negativ. Keines der inokulierten Meerschweinchen erkrankte an Tuberkulose, wie auch keines derselben nach dem darauffolgenden Inneste Zeugnis von einer besonderen Widerstandsfähigkeit ablegte.

Der zweite mit Hühnertuberkulose injizierte *Varanus* ertrug außerordentlich große Keimquantitäten, ohne irgend ein Zeichen von Krankheit oder Unwohlsein abzugeben.

In den letzten Septembertagen des Jahres 1904 wurde ihm an einer der Stelle der ersten Injektionen entgegengesetzten Seite tuberkulöses Sputum inokuliert. Einen Monat nachher treten an der Innestselle und um dieselbe herum einige große Knoten hervor. Gleichzeitig beginnt das Tier leicht abzumagern, doch scheint es nicht lange unter dem Einfluß des eingeführten Materials zu stehen.

Auch der am Inokulationspunkt aufgetretene Knoten verschwand nach kurzem und das Tier hielt sich in leidlichem Zustande, die frühere Lebhaftigkeit freilich kehrte nicht wieder zurück. Ende Oktober wurde es ein zweites Mal, und zwar immer an einer anderen Stelle, die der mit Hühnertuberkulose injizierten entgegengesetzt war, mit einem bacillenreichen und nur wenig andere Keime enthaltenden Sputum injiziert. Die Reaktion war tatsächlich leichter Art, das Tier magerte etwas ab, gab aber keine Zeichen von wirklichem Marasmus.

Auch die an der Innestselle aufgetretenen Erscheinungen zeigten keine Neigung, weiter um sich zu greifen.

Am 12. Dezember wurde das Tier getötet. Bemerkenswerte Läsionen traten nicht zu Tage. Nur im Gekröse fanden sich einige etwas angeschwollene, aber nicht verkäste Ganglien, in der Leber stieß ich auf 2 kleine, ziemlich gut umschriebene Knoten. Da, wo das tuberkulöse Sputum eingeführt worden war, nahmen wir 2 kleine, nekrotische Fetzen enthaltende Hohlräume wahr.

Ringsherum war die Unterhautschicht infiltriert und schnittresistent; es fehlte jedoch an typischen Knötchen, wie solche beim 1. *Varanus* beobachtet worden waren.

Angesichts der Geringfügigkeit der Verletzungen verzichtete ich auf die Anfertigung von Kulturen und fixierte nur einige Stücke in Alkohol und Sublimat.

Die mikroskopische Prüfung der verschiedenen Organe und Gekröseganglien ergab keine tuberkulösen Läsionen. Dagegen lieferte die Prüfung der Unterhautschicht der um die Inneststelle herumliegenden Zone einen unerwarteten Befund. Die Läsionen beschränkten sich auf nachfolgendes: Mäßige Einwanderung kleinzelliger Elemente, Vorhandensein einiger Riesenzellen und weniger Plasmazellen. Hie und da bestand ein Anzeichen von Tuberkulose, d. h. Tuberkelbacillen mit einem mit den gewöhnlichen Verfahren schlecht färbbaren Zentrum, das man auf den ersten Anblick hin mit einer in Verkäsung befindlichen Zone verwechseln konnte. Mit der Färbung nach Ziehl-Neelsen (siehe Fig. 5) erkannte man, daß die ganze Zone mit Myriaden von Tuberkelbacillen angefüllt war. Diese fast normalförmigen, haufenweise herumlagernden, runden und annähernd runden Bacillen hielten alle Räume zwischen Zelle und Zelle besetzt. Die Zentren der Knötchen oder der histologischen Tuberkeln ähnelnden Bildungen, die nach Färbung mit Hämatoxylineosin aus verkästen Zonen zu bestehen schienen, waren dagegen nichts anderes als verwirrte Keimhaufen. Auch 6—7 cm von der Injektionsstelle entfernt fanden sich diese wirklichen Bacillenkolonieen. Einigen nicht stark veränderten Keimen begegnete ich auch im Innern der wenigen Riesenzellen.

Der Befund war in Anbetracht der Fülle der vorhandenen Keime außergewöhnlich und legte den Gedanken an eine in einem Kaltblüter erfolgte Lebensanpassung des Tuberkelbacillen des Menschen nahe.

In dieser Richtung erinnert der Befund an den von einigen anderen Autoren mit Tuberkelkulturen in der Milz der Frösche erhaltenen.

War nun dieser Keim, der sich dem Organismus angepaßt und sich in situ, ohne schwere Läsionen zu erzeugen, so ungemein vermehrt hat, wirklich auch den Säugetieren gegenüber abgeschwächt?

Diese Frage war von größtem Interesse. Leider war es aber bei der geringfügigen und unbedeutenden Größe der Läsionen unterlassen worden, Kulturen anzufertigen, und so ist es mir also unmöglich, auf diese Frage zu antworten.

Es ließ sich also aus den vorbeschriebenen Fällen folgern, daß man zuweilen im *Varanus* eine Tuberkulose erzeugen kann, und zwar wenn man dem Reptil dem Sputum des Menschen entstammende Tuberkelbacillen inokuliert, daß die Ansteckung jedoch bisweilen mit Schwierigkeiten verbunden ist und nur langsam vor sich geht, daß die hauptsächlichen Läsionen in Oberhaut- und Unterhautgewebetuberkeln in der Nähe des Innestortes, sowie in mäßigen tuberkulösen Veränderungen des Brustfells bestehen können, obgleich das Tier deutliche Zeichen von Marasmus und Kachexie abgiebt. Es ließ sich aus vorstehendem Versuch weiterhin ableiten, daß der Bacillus der Menschentuberkulose im Organismus des *Varanus* abgeschwächt wird und somit nicht mehr fähig ist, die Meerschweinchen zu infizieren, daß er fernerhin auch vom morphologischen Standpunkte aus verschiedene Veränderungen erfährt, die wahrscheinlich von einem involutiven Prozeß des Keimes selbst bedingt sind.

Diese Versuche führen also außerdem den Beweis, daß in einigen Fällen die Gewöhnung des (direkt dem Sputum entstammenden) Tuberkelbacillus des Menschen an eine Art saprophytischen oder fast saprophytischen Lebens in der Unterhautschicht der Kaltblüter im Bereiche der Möglichkeit liegt, und liefern uns eine wertvolle Probe für die Theorie des Anpassungsvermögens des Tuberkelbacillus, dessen künstliche Züchtung so große Umständlichkeiten bereitete.

Wenngleich nun diese Versuche auch dargetan haben, daß der Keim stark abgeschwächt werden kann, so gestatten sie doch nicht, daran zu denken, daß der Keim wenigstens die Meerschweinchen gegen menschliche Tuberkulose schützen könne.

Führte also auch die Untersuchung zu biologisch interessanten Ergebnissen, so hat doch der praktische Versuch, der darauf hinausging, durch Passage des menschlichen Tuberkulosebacillus durch diese Varietät von Tropenreptilien einen Schutzstoff zu schaffen, fehlgeschlagen.

Es tritt nun an uns die Frage heran: Stellt der Friedmannsche Bacillus wirklich eine sehr seltene oder durchaus zufällige Varietät eines Tuberkelbacillus dar, oder sind seine Eigenschaften allen oder vielen Tuberkelbacillen der Reptilien gemein?

Wie ich bereits erwähnt habe, besitzen wir keine Angaben über die natürliche Tuberkulose der Reptilien, somit ist es auch nicht möglich, mit Bestimmtheit zu sagen, ob die tuberkulöse Infektion dieser Wirbeltiere eine seltene oder entsprechend häufige Krankheitsform ist.

Wenn die Friedmannschen Fälle bestätigt werden, so können die Fälle von natürlicher Tuberkulose bei den Reptilien für die Zubereitung der Schutzstoffe die Bedeutung der Fälle von cow-pox bei den Kühen gewinnen.

Die Notwendigkeit, nachzuforschen, ob die Tuberkuloseinfektion bei diesen Tieren öfters vorkommt, lag also auf der Hand.

Die betreffende, aus den bis heute von mir vorgenommenen Versuchen hervorgehende Antwort kann nicht erschöpfend sein, immerhin aber ist es schon jetzt möglich, zu antworten, daß man zuweilen bei den Reptilien einen Prozeß beobachtet, der dem tuberkulösen Prozeß bei Säugetieren wahrscheinlich analog ist.

Es sei hier erwähnt, daß Graf Peracca, der Gelegenheit hatte, zahlreiche Reptilien zu sezieren, zuweilen Lungenveränderungen und Krankheitserscheinungen in den serösen Häuten wahrgenommen hat, die im großen und ganzen wie eine Anhäufung von verschieden großen, grauen oder gelblich-grauen Knötchen aussahen, die in der Tat an einige tuberkulöse Verletzungen bei Säugetieren erinnerten. Bei einer Schildkröte, deren Stücke ich, trotzdem sie im Museum für vergleichende Anatomie aufgehoben worden sind, bis jetzt nicht auffinden konnte, schien die tuberkulöse Läsion der Lunge und der Milz unzweifelhaft, und all dies schon bei makroskopischer Prüfung.

Ganz hiervon absehend, habe ich aber auch einige viel bestimmtere Tatsachen ansammeln können.

In den ersten Novembertagen sandte mir Prof. Peracca einen prächtigen *Macroscincus Coctaei* (Dum et Bibr.) aus der Gruppe der *Scincidi* von zwei Inseln der Kap Verdeschen Inselgruppe.

Das Tier magerte seit $1^1/_2$ Monaten zusehends ab und lieferte Anzeichen von starkem Marasmus. 2 Tage nach Uebergabe des Tieres in meine Hände verendete es.

Der Autopsiebefund ergab folgendes: Der linke Lungenlappen hing mit der Pleura zusammen und die ganze umliegende Zone befand sich in starkem käsigen Zerfall. Die Läsion war vollständig auf die Pleurahöhle beschränkt, zog kleine Oberflächenschichten in Mitleidenschaft und bot das Bild einer wahrscheinlich alten käsigen Pleuritis. In der Milz waren 2 oder 3 kleine, hirsekorngroße und gelblich-grau aussehende Tuberkel zu erblicken. Einige Gekröseganglien waren vergrößert und auf dem Wege der Verkäsung. In der Leber waren einige blasse, schlecht abgegrenzte Flecken sichtbar und im Herzen in der Spitzengegend ein graues, subepicardisches Tuberkel, während ein ähnlicher Tuberkel sich in der Nähe der rechten Herzvorkammer abhob.

Es wurden nun Ausstrichpräparate und Kulturen hergestellt und Stücke in Alkohol und Sublimat fixiert. In den Ausstrichpräparaten von Ganglien und Milz konnten mit dem üblichen Färbeverfahren oder nach Gram keine gewöhnlichen Keime, noch säurefeste Bacillen aufgefunden werden.

Die mit einigen zu Brei verriebenen Ganglien und einer der Herztuberkel hergestellten und auf 27° und 37° gehaltenen Kulturen blieben bis zum 5. Tage, an dem sie durch Unachtsamkeit anderer zerstört wurden, steril. Sie konnten also nichts weiter besagen, als daß aus diesen Verletzungen keine gewöhnlichen Keime auf den üblichen Nährböden (Glycerinagar, Glycerinserum, Blutagar) isoliert werden konnten.

Der histologische Befund der Stücke war sehr belehrend, die Pleuraläsion zeigte klar, daß es sich da um einen Lunge und Pleura in Mitleidenschaft ziehenden Entzündungsprozeß mit kleinzelliger Infiltration, Zerstörung der Gewebe, und Verkäsungszonen handelte. Darum herum bemerkte man an einigen Stellen Riesenzellen, die den bei der Tuberkulose der Säugetiere angetroffenen stark ähnelten. Gebilde aber, die geradezu mit dem Tuberkel verglichen werden könnten, waren nicht vorzufinden.

Die Knötchen der Milz und des Herzens dagegen, sowie die Ganglien hatten das Aussehen typischer Tuberkel, d. h. käsige Entartung des Innenraumes, Vorhandensein zahlreicher lymphoider Elemente, sowie eine bedeutende Anzahl Riesenzellen, die mit den bei Säugetiertuberkulose angetroffenen identisch waren, und schließlich spärliche epitheloide Zellen.

Fig. 4 gibt eines der großen Milzknötchen wieder.

Die auf das Hervorbringen säurefester Keime bedachte Färbung blieb durchaus ergebnislos. Auch mit anderen Verfahren gelang es nicht, in den Verletzungen die Gegenwart irgendwelchen Keimes nachzuweisen. Das gilt übrigens für die Schnitte aller geprüften Stücke.

Fehlt nun also auch der direkte bakteriologische Nachweis, so machen doch die histologische Natur der Verletzungen, die auch mit Kulturen dargelegte Abwesenheit anderer Keime, sowie der makroskopische Charakter der pleuropulmonären Läsionen die Diagnose von Tuberkulose zu einer stark wahrscheinlichen, wenn nicht absoluten.

Aus diesem Falle will ich nun noch nicht ableiten, daß man die Tuberkulose nicht äußerst selten bei den Reptilien der warmen Länder antreffen kann. Gewiß aber besagt er, daß die Wahrscheinlichkeit besteht, daß die Friedmannschen Fälle keine sonderbaren Ausnahmen sind, und drängt uns, in dieses neue Kapitel der Pathologie der Tuberkulose einzudringen, das reiche, praktische Erfolge zu versprechen scheint.

Man übersehe dabei jedoch nicht, daß nicht alle makroskopisch als sichere tuberkulöse Verletzungen erscheinende Läsionen der Reptilien wirklich auch solche sind. Vergrößerte Ganglien findet man in den Reptilien und besonders in deren prävertebralen Gegenden und im Gekröse nicht selten. Bei zahlreichen von mir an einheimischen Reptilien und denen warmer Länder ausgeführten Untersuchungen erlaubte das Größerwerden der Ganglien es weder bei der Prüfung mit Kulturen noch beim histologischen Examen und noch weniger nach den Innesten, mit einer tuberkulösen Läsion in Beziehung gebracht zu werden.

Zuweilen bieten sich umfangreiche Lungenveränderungen, die makroskopisch an eine wahre Lungentuberkulose glauben lassen, für die aber auf keinem Wege die tuberkulöse Natur nachweisbar ist.

So hatte ich im November 2 schöne *Iguanae tuberculatae* aus Zentralamerika, von denen eine seit einem Monate Zeichen von schwerem Marasmus nebst Atmungsbeschwerden, Freßunlust an den Tag legte, erhalten.

Die Autopsie wies eine schwere Lungenveränderung auf. Die Lunge war ganz gelblich-grau und schnittresistent. Auf der äußeren und der Schnittoberfläche traten kleine, graue oder gelbliche Knoten hervor, von denen einige verkäst zu sein schienen. Der Zentralraum der Lunge war in eine wahre Höhle umgewandelt.

Die Prüfung der Kulturen lieferte einen dem B. coli ähnelnden Keim in der Lunge. Das Keimmaterial der Tiere bewirkte das Verenden einiger Meerschweinchen an Peritonitis oder infolge eines sonderbaren hepatischen Abscesses, lieferte aber niemals — trotz Heranziehung zahlreicher Tiere — einen der Tuberkulose auch nur verdächtigen Befund. Von diesem Gesichtspunkte aus war auch das histologische Examen aller Organe negativ.

Man beachte, daß auch hier bedeutende Vergrößerung der Ganglien und das Vorhandensein von Nierenknötchen verzeichnet werden konnte, trotzdem aber war es nicht möglich, eine zur Tuberkulose hinneigende Form der Elemente ausfindig zu machen, noch fanden sich Riesenzellen und viel weniger noch waren säurefeste Keime nachzuweisen.

Alles Vorhergesagte zusammenfassend, ergibt sich somit, daß man bei Verwendung aktiven Tuberkelsputums die menschliche Tuberkulose auf den *Varanus* übertragen kann, er allem Anscheine nach jedoch der Tuberkulose nicht leicht erliegt. Wenn sich diese aber weiter entwickelt, so sind die mit Vorliebe auf die Injektionsstelle und auf die serösen Häute des Abdomens beschränkten Veränderungen nicht sehr ausgedehnt.

Beim Durchgang durch dieses Reptil wird der Keim bedeutend abgeschwächt, ohne jedoch dem Meerschweinchen gegenüber besondere Schutzeigenschaften an den Tag zu legen. Auch die Lebensfähigkeit des Keimes scheint stark herabgesetzt zu sein, so daß er nach dem Durchgang durch den *Varanus* bei Serienübertragungen nur schlecht wächst.

Zusammen mit dieser Tatsache wird im Organismus des geimpften Tieres überdies eine morphologische Veränderung des menschlichen Tuberkelbacillus wahrgenommen. Es neigt dieser nämlich dazu hin, evolutive, längliche Formen mit leicht abgerundeten Enden anzunehmen, die sich sehr leicht untereinander verschlingen. Außerdem vermehrt sich zuweilen der im menschlichen Sputum enthaltene und dem *Varanus* subkutan injizierte Tuberkelbacillus in situ außergewöhnlich stark und

4

Fig. 1

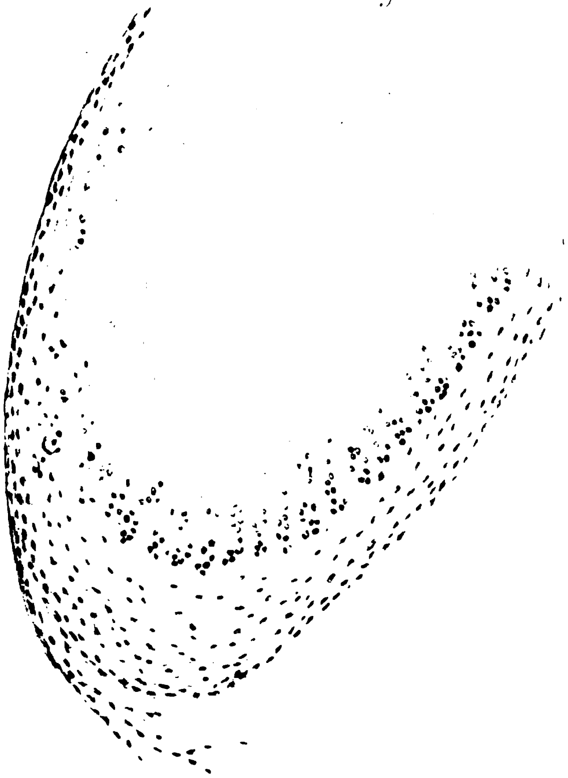


Fig. 4

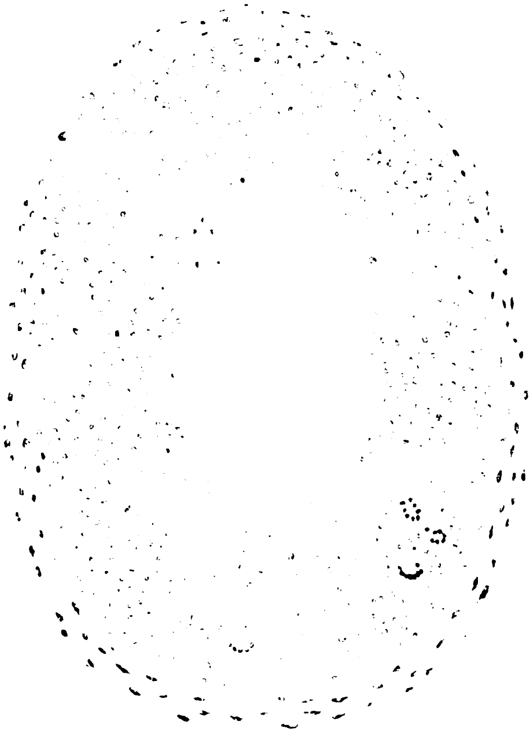


Fig. 2

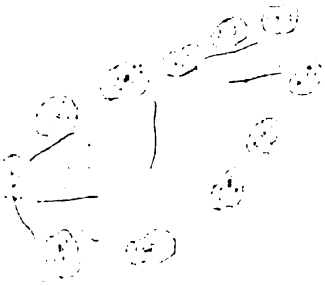


Fig. 5

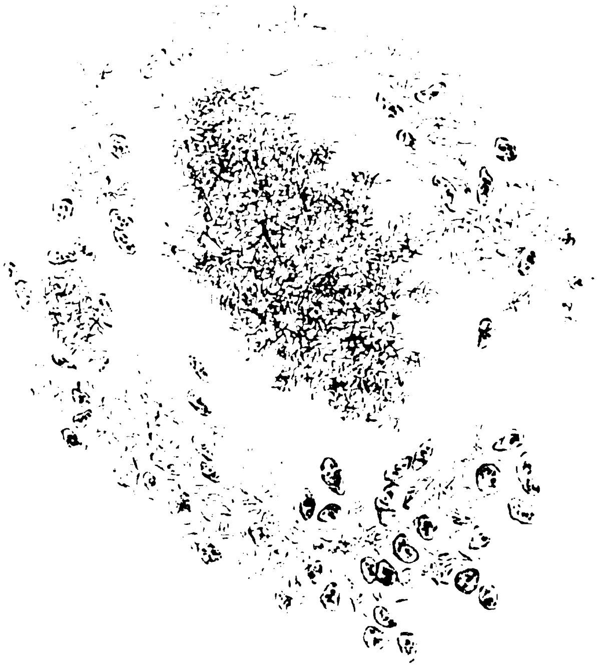


Fig. 3

on Gustav Fischer Jena

Lab. Salussolia Torino

dies, ohne auffallende Verletzungen zu verursachen, wobei er also ein Anpassungsvermögen verrät, das man dem neuen Medium gegenüber fast saprophytisch nennen könnte.

Andererseits lassen die wenigen bis jetzt gemachten Nachforschungen zum mindesten darüber Zweifel aufkommen, ob die Tuberkulose bei den Reptilien eine außergewöhnliche Krankheitsform ist oder nicht. Zweifellos aber besagen sie, daß bei den Reptilien der warmen Zonen zuweilen stark an tuberkulöse Verletzungen erinnernde Läsionen beobachtet werden. Dagegen war es nicht möglich, bei den in großer Anzahl untersuchten Reptilien unserer Gegenden ähnliche Veränderungen vorzufinden.

Während nun diese Bestätigungen einerseits uns vergewissern, daß im Organismus dieser Klasse von kaltes Blut führenden Wirbeltieren auch der Tuberkelbacillus des Menschen abgeschwächt wird, ohne jedoch einen Impfstoff abzugeben, und während sie zu Gunsten einer saprophytischen Anpassung des Keimes sprechen, lassen sie uns gleichzeitig der Hoffnung leben, daß in den Reptilien der warmen Länder tuberkulöse Verletzungen angetroffen werden können, die sich zur Isolierung des Keimes und Anfertigung von Kulturen eignen. Sie laden uns also dazu ein, diesem neuen Kapitel der Pathologie der Tuberkulose unsere vollen Kräfte zu widmen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Teil eines Abdominalganglions eines *Varanus* in Verkäsung. Hämatoxylin-Eosin. Koritska, Obj. 5, Ok. 3.

Fig. 2. Riesenzelle eines Hautknötchens des *Varanus* mit länglichen Formen des Tuberkelbacillus. Ziehl-Neelsen. Apochrom. Zeiss, 2 mm. Komp.-Ok. 8.

Fig. 3. Aus dem *Varanus* isolierte Tuberkelbacillen. Aus Blutagarkultur. Koristka, $^1/_{12}$, Ok. 3.

Fig. 4. Tuberkelknötchen der Milz des *Macroscincus*. Hämatoxylin-Eosin. Koristka, Obj. 6, Ok. 3.

Fig. 5. Tuberkelbacillus in der Unterhautschicht des 2. *Varauns*. Ziehl-Neelsen. Zeiss' Apochrom., 2 mm. Komp.-Ok. 8.

Nachdruck verboten.

Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern.

[Institut für allgemeine Pathologie zu Florenz (Direktor:
Prof. A. Lustig).]

Von Dr. **N. Tiberti,**
Privatdozent für Bakteriologie an der k. Universität Florenz.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Man hätte aber die Tatsache nicht in Zweifel ziehen können, wenn man im Nerven entweder den Bacillus des Tetanus oder sein Toxin hätte nachweisen können.

Die Bacillen des Tetanus hat man selten in den Nerven gefunden. Nur Nicolaier fand sie einmal im N. ischiadicus.

Genauer sind die Angaben über die Toxizität der Nerven.

Kitasato fand, daß die Nerven tetanischer Tiere keine Toxizität besaßen; dasselbe fanden Fermi, Celli und Camara Pestana

Leider mißlingt oft nach Gumprecht der Nachweis des Tetanustoxins im N. ischiadicus in Fällen von lokalem Tetanus, welch letzterer noch sehr der Aufklärung bedarf. Es läßt sich indessen nicht ausschließen, daß bisweilen, auch wenn die peripherischen Nerven tetanischer Tiere Toxin enthalten, das letztere wegen der geringfügigen Dosis nicht nachgewiesen werden kann.

Daß das Tetanusgift einfach vom Blute aus zu den Nervenzentren hinübergeleitet werde, war a priori nicht anzunehmen angesichts der Vorliebe, welche das Toxin für die Nervenzentren des Inokulationsgebietes zeigt, was man als lokalen Tetanus bezeichnet. Zur Erklärung des letzteren nahm man an, daß die Uebertragung des Tetanustoxins im Anfangsstadium den Nerven entlang erfolge und daß nach und nach, wenn ein längeres Inkubationsstadium vergangen sei, durch Vermittelung des Blutes der allgemeine Tetanus eintrete.

Stintzing fand, wie wir schon andeuteten, in 2 Fällen von schwerem Tetanus beim Menschen die cerebrospinale Flüssigkeit in hohem Grade toxisch für Mäuse; dies würde zu Gunsten des Transportes des Tetanustoxins den Nervenscheiden entlang sprechen. Es scheint, wenigstens nach Stintzing, daß eine größere Affinität des Toxins für die die Nerven umspülende Flüssigkeit als für das Blut vorhanden ist. Daraus folgerte er, das durch den Nicolaierschen Bacillus an der Stelle, wo er sich festgesetzt hat, erzeugte Toxin gelange zum Teil in die Blutbahn und könne von dieser aus seine Wirkungen entfalten, zum größten Teil jedoch werde es zum Rückenmark geleitet, den Nerven der Umgebung entlang, wahrscheinlich in die Maschen des Perineuriums, da dieser Flüssigkeit eine besondere Anziehungskraft eigen zu sein scheine.

Hat das Toxin die subarachnoidale Flüssigkeit und unmittelbar darauf das Rückenmark erreicht, so wirkt es auf die Zellenelemente ein, an denen es sich zuerst festsetzt, und es zeigt sich der lokale Tetanus; wird das Toxin in hinreichender Menge erzeugt und greift es andere Nervenzentren an, so tritt allgemeiner Tetanus auf. Dies geschieht beim experimentellen Tetanus; aber auch beim Menschen kann nach Stintzing der Vorgang der nämliche sein, nur treten die tetanischen Kontraktionen nicht mit der Regelmäßigkeit auf, die man bei den Versuchstieren wahrnimmt, wahrscheinlich weil das Toxin sich in der die Lymphspalten ausfüllenden Flüssigkeit schneller ausbreitet.

Moschowitz ist der Ansicht, daß die Auslegung Stintzings die annehmbarste sei, d. h. daß ein kleiner Teil des Toxins seinen Weg zu den Nervenzentren auf den Blutbahnen finde, daß aber der größte Teil den Nervenscheiden entlang weiter geleitet werde.

Nach Goldscheider findet die Berührung des Tetanustoxins mit den Zentralnervenorganen vermittelst des Kreislaufes statt.

Courmont und Doyon neigen zu der Hypothese von der Uebertragung des Tetanustoxins auf dem Nervenwege, verfolgen aber diese Auffassung nicht weiter.

Brunner beobachtete bei seinen Untersuchungen über den Kopftetanus, daß nach der Resektion des N. facialis das Tetanustoxin keine Kontrakturen des Gesichtes bewirken kann. Das Toxin, welches nur auf die Nervenstämme der Inokulationsstelle eine Wirkung ausübt, wird auf den N. facialis übertragen und steigt in dessen Innern empor bis zu den Zentralnervenorganen, indem es nur auf die mit den kleinen

Aesten des N. facialis selbst in Verbindung stehenden Ganglienzellen einen Reiz ausübt.

Nach Gumprecht erklärt sich der lokale Tetanus leicht, wenn man annimmt, daß die Verbreitung des Giftes weniger auf dem Wege durch die Lymph- und Blutgefäße als den Nerven entlang stattfindet.

Marie und Morax wiesen nach, daß die Uebertragung des Tetanustoxins auf die Nervenzentren durch die motorischen und vasomotorischen Nerven geschieht, die es aus den organischen Flüssigkeiten, die damit überladen sind und mit denen sie in Berührung stehen, vermittelst ihrer letzten Ausläufer absorbieren. Nach diesen Autoren findet ein wahrer Kreislauf des Toxins in dem Achsencylinder statt; es breitet sich längs des letzteren aus und schlägt eine zentripetale Richtung ein. Der Transport des Toxins längs der Nerven ist gebunden an die Integrität der Achsencylinder, so daß, wenn letzterer z. B. infolge Nervendurchtrennung degeneriert ist, der Transport längs des letzteren vollständig aufhört.

Meyer und Ransom behaupten auf Grund einer Reihe von zahlreichen und gut durchgeführten Experimenten, das Tetanustoxin gelange nicht direkt zum Zentralnervensystem durch die Blut- und Lymphbahnen, sondern es werde von den Nervenendigungen in der Peripherie aufgenommen und zu den Markzentren **einzig und allein** auf dem Wege der Nerven geleitet.

Auch Behring nimmt in einer jüngst veröffentlichten Arbeit an, das Tetanustoxin erreiche die Nervenzentren, dem Achsencylinder entlang sich weiter bewegend, und wenn letzterer degeneriert sei, so sei er nicht mehr im stande, das Gift weiterzubefördern. Ist das Toxin an der Stelle, wo es erzeugt oder injiziert worden ist, von den innerhalb der Muskeln liegenden Nervenenden absorbiert worden, so geht es weiter bis zum Nervenstamm und zu den Ganglienzellen des Rückenmarkes in der Weise, daß die im Boden aufgelösten Substanzen vermittelst der Wurzeln in den Stamm des Baumes und von dort aus in die Endorgane des Baumes selbst gelangen. Zuerst werden einzelne Ganglien ergriffen und es zeigt sich lokaler Tetanus; nach und nach gelangt das Toxin zu anderen Ganglien, breitet sich aus und es zeigt sich allgemeiner Tetanus.

IX. Eigene Untersuchungen.

Nach dieser kurzen Darlegung dessen, was sich auf das Tetanustoxin und die Bahnen bezieht, auf denen es zu den Nervenzentren gelangt, gehe ich zur Beschreibung meiner eigenen Untersuchungen über, die, wie man nach dem bis jetzt Gesagten begreiflich finden wird, namentlich zu dem Zwecke angestellt wurden, die Behauptungen anderer Forscher zu kontrollieren, sei es nun, indem ich schon gemachte Experimente wiederholte und dabei die Bedingungen änderte oder nicht, oder indem ich neue Experimente durchführte.

Als Versuchstiere dienten mir Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde. Das Tetanustoxin wurde mir freundlichst durch das Institut Pasteur in Paris geliefert; sogleich nach der Präparation tötete dieses Toxin Meerschweinchen mit $^1/_{500}$ ccm und Mäuse mit $^1/_{10000}$ ccm.

Bei einer ersten Reihe von Experimenten beabsichtigte ich, zu untersuchen, ob nach Injektion von Tetanustoxin unter die Haut der Hinterbeine von Meerschweinchen das Toxin in den Nervenstämmen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

nachgewiesen werden könne, welche die Injektionsstelle mit dem Zentralnervensystem in Verbindung setzen.

Meerschweinchen I. Gewicht 440 g.

25. Jan. 1904, 9 Uhr vorm. Injektion von $^1/_4$ ccm Tetanustoxin unter die Haut der linken Wade.

26. Jan. 1904, 3 Uhr nachm. Das Meerschweinchen zeigt Erscheinungen von allgemeinem Tetanus; es wird getötet. Ich entnehme dem Herzen 2 ccm Blut und lasse das Serum sich ausscheiden; $^1/_2$ ccm von diesem Serum inokuliere ich subkutan einer kleinen weißen Maus, die am folgenden Tage Tetanuserscheinungen zeigt und 3 Tage nach der Inokulation an Tetanus verendet. — Ich bereite eine Emulsion aus 3 g Gehirnsubstanz und 3 ccm steriler Bouillon. Von dieser Emulsion mache ich bei einer Maus eine subkutane Injektion von $^3/_4$ ccm; das Tier zeigt während der folgenden Tage keine Tetanuserscheinung und bleibt am Leben.

Ich verreibe 2 g Rückenmark in 2 ccm steriler Bouillon und inokuliere $^3/_4$ ccm dieser Emulsion unter die Haut einer Maus. Keine Tetanuserscheinung wahrzunehmen.

Ich impfte unter die Haut der linken Weiche einer Maus den N. ischiadicus des Meerschweinchens, der der Seite entspricht, auf welcher die Injektion vorgenommen wurde (linker N. ischiadicus). Nach ca. 36 Stunden zeigt die Maus eine deutliche Kontraktur des linken Hinterbeines (lokaler Tetanus); der Schwanz ist starr. Nach 4 Tagen verendet sie unter Erscheinungen von allgemeinem Tetanus.

Meerschweinchen II. Gewicht 395 g.

27. Jan. 1904, 5 Uhr nachm. Injektion von $^1/_4$ ccm Tetanustoxin unter die Haut der linken Wade.

29. Jan. 1904, 9 Uhr morgens. Ich finde das Meerschweinchen verendet. Am vorhergehenden Tage hat es Erscheinungen von allgemeinem Tetanus dargeboten.

Mit Herzblut, Emulsion von Gehirn und Rückenmark in denselben Dosen, wie beim vorigen Meerschweinchen angegeben, inokuliere ich 3 Mäuse. Nur die mit dem Blutserum, das dem Herzen des tetanischen Meerschweinchens entnommen war, geimpfte Maus zeigte deutliche Erscheinungen von Tetanus und überlebte; die beiden anderen Mäuse boten kein Anzeichen von Tetanus.

Einer anderen Maus wurde unter der Haut der linke N. ischiadicus des Meerschweinchens eingepflanzt; diese Maus zeigte während der folgenden Tage eine starke Kontraktur des rechten Beines, unter dessen Haut der Nerv inokuliert worden war; diese Kontraktur verschwand langsam nach 7—8 Tagen und die Maus überlebte.

Aus diesen beiden Experimenten ergibt sich, daß das Blut tetanischer Meerschweinchen und der N. ischiadicus der Seite, auf welcher die Injektion von Tetanustoxin ausgeführt wurde, toxische Wirkungen entfalten, die bei Mäusen bisweilen tödlich sind, bisweilen wieder nicht tödlich; das Gehirn und das Rückenmark derselben Meerschweinchen zeigen sich nicht im stande, auf Mäuse die geringste Tetanuserscheinung zu erzeugen.

Folglich: Nach Injektion von Tetanustoxin unter die Haut eines Gliedes bei einem für Tetanus empfänglichen Tiere findet man eine gewisse Menge dieses Toxins in den Nervenstämmen des Gliedes selbst.

Diese Experimente bestätigen nur das, was Marie und Morax, Meyer, Ransom u. a. nachgewiesen haben.

X. Das Tetanustoxin dringt in die Nerven ein durch ihre peripherischen Ausläufer.

Nachdem die Anwesenheit des Tetanustoxins im Umfang der peripherischen Nerven als Tatsache angenommen worden war, mußt ich untersuchen, auf welchem Wege es hineingelange, ob durch die peripherischen Ausläufer oder durch die Kapillaren des Nerven. Um diese Frage aufzuklären, durchschnitt ich bei 3 Meerschweinchen den N. ischiadicus einer Seite in der Höhe der Incisura ischiadica und injizierte unmittelbar nachher in die Muskeln der entsprechenden Wade eine mehrfach tödliche Dosis von Tetanustoxin. Bei 3 anderen Meerschweinchen durchschnitt ich den N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehlengrube und

injizierte gleichfalls unmittelbar nachher Tetanustoxin in die Wade derselben Seite. Nach 24 Stunden, als die Tetanuserscheinungen allgemein eingetreten waren, tötete ich die Meerschweinchen, entnahm ihnen den der Injektionsseite entsprechenden N. ischiadicus und pflanzte ihn bei Mäusen ein, um seine Toxizität zu erproben.

Meerschweinchen III. Gewicht 390 g.

29. Januar 1904, 4 Uhr nachm. Recision des linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica. Unmittelbar nachher injiziere ich in die Muskeln der entsprechenden Wade $^1/_4$ ccm Tetanustoxin.

30. Januar 1904, 4 Uhr 30 Min. nachm. Das Meerschweinchen zeigt Erscheinungen von allgemeinem Tetanus. Heftige Kontraktur des linken Beines. Ich entnehme den N. ischiadicus dieser Seite und pflanze ihn ein unter die Haut einer Maus, die am folgenden Tage Zeichen von Tetanus darbietet und nach 2 Tagen verendet.

Meerschweinchen IV. Gewicht 15 g.

30. Januar 1904. Dieselbe Behandlung wie beim vorigen. Der N. ischiadicus der mit Tetanustoxin injizierten Seite, den ich entnahm, als die Tetanuserscheinungen deutlich ausgeprägt waren, erwies sich als toxisch für eine Maus, die nach Einpflanzung des Nerven dem Tetanus erlag.

Meerschweinchen V. Gewicht 390 g.

4. Februar 1904. Dieselbe Behandlung wie bei den 2 vorigen. Nachdem ich den N. ischiadicus der mit Tetanustoxin injizierten Seite wie bei Meerschweinchen IV entnommen und ihn unter der Haut einer Maus eingepflanzt habe, zeigt letztere während der folgenden Tage deutliche Anzeichen von lokalem Tetanus, überlebt jedoch.

Meerschweinchen VI. Gewicht 510 g.

29. Janur 1904. Recision des linken N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehlengrube. Unmittelbar nachher injizierte ich in die Muskeln der Wade derselben Seite $^1/_4$ ccm Tetanustoxin.

Am Vormittag des 30. Januar, als die Erscheinungen des allgemeinen Tetanus ausgeprägt sind, entnehme ich den N. ischiadicus und impfe ihn unter die Haut einer Maus ein, die während der folgenden Tage ganz leichte Erscheinungen von lokalem Tetanus darbietet und überlebt.

Meerschweinchen VII. Gewicht 425 g.

31. Januar 1904. Recision des linken N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehlengrube. Injektion von Tetanustoxin wie oben.

Nach 24 Stunden entnehme ich den linken N. ischiadicus und impfe ihn unter die Haut einer Maus ein, die überhaupt keine Erscheinungen von Tetanus während der folgenden Tage darbietet.

Meerschweinchen VIII. Gewicht 475 g.

4. Februar 1904. Dieselbe Behandlung wie bei den 2 vorigen.

5. Februar 1904. Ich töte das Meerschweinchen, das Erscheinungen von Tetanus darbietet, entnehme den linken N. ischiadicus und verpflanze ihn unter die Haut der linken Weiche einer Maus. Letztere zeigt während der folgenden Tage deutliche Anzeichen von lokalem Tetanus, überlebt jedoch.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß der an der Incisura ischiadica durchschnittene, d. h. von seinem Ganglienzentrum getrennte, aber immer noch mit den mit Tetanustoxin injizierten Muskeln in Verbindung stehende N. ischiadicus des Meerschweinchens sich stets stark toxisch für Mäuse erweist, während der in der Höhe der Kniekehlengrube, d. h. von den Muskeln, in welche das Tetanustoxin injiziert wird, durchschnittene N. ischiadicus im stande ist, bei Mäusen leichte Erscheinungen von lokalem Tetanus hervorzurufen, die sehr bald verschwinden und daß das Tier überlebt.

Marie und Morax beobachteten bei ähnlichen Untersuchungen niemals die geringste Erscheinung von Tetanus, wenn sie unter die Haut von Mäusen den N. ischiadicus eines tetanischen Meerschweinchens einimpften, der von den Muskeln getrennt war, die er innerviert und in welche das Toxin inokuliert worden war.

Ich glaube, daß dieser Unterschied in den Resultaten dem Umstande zuzuschreiben ist, daß man bei Durchschneidung des N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehlengrube in Wirklichkeit nicht jede Verbindung des Hauptstammes mit den Muskeln der Wade aufhebt; denn ich konnte bei sorgfältiger Ausführung des Schnittes manchmal kleine kollaterale Nervenäste wahrnehmen, die, vom Hauptstamme des N. ischiadicus ausgehend, sich in den Muskeln des Beines verlieren. Aller Wahrscheinlichkeit nach kann durch die Aeste eine gewisse Menge Tetanustoxin von der Injektionsstelle aus zum Hauptnervenstamm gelangen, die in der Kniekehlengrube durchschnitten wurde.

Aus den vorausgehenden Experimenten ergibt sich, daß das Tetanustoxin in die Nerven eindringt durch ihre peripherischen Ausläufer, insofern, als die mit den Muskeln, in welche das Toxin injiziert wurde, in Verbindung stehenden Nerven sich immer als in hohem Grade giftig für Mäuse erweisen im Gegensatz zu denjenigen, welche von den Muskeln getrennt sind, und deren leichter Grad von Giftigkeit sich durch das Vorhandensein von kollateralen Aesten erklären läßt, die von der Peripherie aus eine kleine Quantität Toxin zum zentralen Stumpf des durchschnittenen Nerven hinführen.

XI. Beziehung des Tetanustoxins zur Cylinderachse des peripherischen Nerven.

Nachdem nachgewiesen war, daß das Tetanustoxin in die Nerven eindringt durch die peripherischen Ausläufer der letzteren, war zu untersuchen, auf welche Weise es im Nerven selbst vordringt, bis es die Nervenzentren erreicht. Und angesichts der besonderen Bedeutung, welche die Autoren dem Achsencylinder bei dem Transport des Toxins beilegen, handelte es sich darum, zu untersuchen, ob der Transport des Toxins in den degenerierten Nerven erfolge. Zu diesem Zweck führte ich, indem ich die von Marie und Morax gemachten Experimente modifizierte, bei 4 Meerschweinchen und 3 Kaninchen die Durchschneidung des N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica aus und inokulierte dann nach verschiedener Zeit von dieser Operation das Tetanustoxin in beide Waden; hierauf, wenn die Tiere deutliche Erscheinungen von Tetanus zeigten, exstirpierte ich den durchschnittenen sowie den unverletzten N. ischiadicus und stellte vergleichende Versuche hinsichtlich der Toxizität der beiden Nerven an, indem ich sie bei Mäusen unter die Haut einimpfte.

Meerschweinchen IX, Gewicht 395 g.

19. Februar 1904, 10 Uhr vorm. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

21. Februar, 11 Uhr vorm. Injektion von $^1/_4$ ccm Tetanustoxin in die Wade auf beiden Seiten.

22. Februar, 4 Uhr nachm. Das Meerschweinchen zeigt Erscheinungen von heftigem Tetanus. Es wird getötet. Zwei Bruchstücke von gleicher Länge (ca. 2 cm) eines jeden N. ischiadicus werden entnommen und zwei Mäusen unter die Haut geimpft.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus bietet während der folgenden Tage sehr ausgeprägte Erscheinungen von Tetanus und verendet.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus verendet nach 3 Tagen unter Erscheinungen von Tetanus.

Meerschweinchen X. Gewicht 480 g.

19. Februar 1904, $10^1/_2$ Uhr vorm. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe des Incisura ischiadica.

28. Februar. Injektion von $^1/_4$ ccm in jede Wade.

29. Februar, vorm. Das rechte Hinterbein zeigt starke Kontrakturen.

29. Februar, 2 Uhr nachm. Das Meerschweinchen zeigt heftige Starrkrämpfe, die besonders bei Reizung des Tieres hervortreten. Es wird um 5 Uhr nachmittags getötet. Zwei Mäuse werden geimpft wie oben.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus verendet unter Erscheinungen von Tetanus.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt nach 4 Tagen sehr leichte Erscheinungen von lokalem Tetanus, die nach und nach verschwinden und die Maus überlebt.

Meerschweinchen XI. Gewicht 462 g.

19. Februar 1904, 10 Uhr 45 Min. vorm. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

4. März, 9 Uhr vorm. Injektion von $^1/_4$ ccm Tetanustoxin in die Wade.

5. März, vorm. Das Meerschweinchen zeigt Erscheinungen von Tetanus, die sich während des Tages deutlich ausprägen.

5. März, 5 Uhr nachm. wird es getötet. Die N. ischiadici werden zwei Mäusen eingeimpft, wie oben.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt während der folgenden Tage Erscheinungen von Tetanus. Wird tot aufgefunden am Vormittag des 9. März.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt während der 3 ersten auf die Impfung folgenden Tage gar keine Erscheinungen von Tetanus. Am 4. Tage zeigt sie eine ganz leichte Kontraktur des rechten Hinterbeines, die immer mehr verschwindet und die Maus überlebt.

Meerschweinchen XII. Gewicht 420 g.

19. Februar 1904, 11 Uhr 15 Min. vorm. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

19. März 1904. Injektion von Tetanustoxin, wie oben. Verendet in der Nacht vom 21. zum 22. März.

22. März, 9 Uhr vorm. Wie gewöhnlich, werden die N. ischiadici zwei Mäusen eingeimpft.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus verendet an Tetanus.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt gar keine Erscheinung von Tetanus.

Kaninchen I. Gewicht 2,400 kg.

23. Januar 1904. Durchneidung des N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

24. Januar 1904, 9 Uhr 30 Min. vorm. Injektion von $^3/_4$ ccm Tetanustoxin in jede Wade.

27. Januar 1904. Das Kaninchen zeigt einen gewissen Grad von Starrheit in den Hinterbeinen. Es wird getötet. Von jedem N. ischiadicus wird ein Stück genommen und zwei Mäusen eingeimpft, wie oben.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt Erscheinungen von Tetanus und verendet.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus verendet unter Erscheinungen von Tetanus.

Kaninchen II. Gewicht 2,175 kg.

23. Januar 1904. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

3. Februar 1904. Injektion von Tetanustoxin, wie oben.

4. Februar. Ich entnehme die N. ischiadici und impfe 2 Mäuse.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt deutlich ausgesprochene Erscheinungen von Tetanus, überlebt aber.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt gar keine Erscheinungen von Tetanus.

Kaninchen III. Gewicht 2,110 kg.

23. Januar 1904. Resektion des N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica.

23. Februar, 9 Uhr 30 Min. vorm. Gewicht 2,340 kg. Injektion von $^3/_4$ ccm Tetanustoxin in jede Wade.

24. Februar. Ich entnehme jedem N. ischiadicus ein Stück und impfe es zwei Mäusen ein.

Die mit dem unverletzten N. ischiadicus geimpfte Maus beginnt am 3. Tage deutliche Anzeichen von Tetanus zu zeigen. Die Erscheinungen vermehren sich während der folgenden Tage noch stärker. Verendet am 5. Tage.	Die mit dem durchschnittenen N. ischiadicus geimpfte Maus beginnt am 5. Tage ganz leichte Erscheinungen von Tetanus im linken Hinterbein zu zeigen (lokaler Tetanus). Schwanz etwas starr. Es treten keine Erscheinungen von allgemeinem Tetanus ein und die Maus überlebt.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über bacilläre Dysenterie[1].

[Aus dem Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien
(Vorstand: Oberstabsarzt Dr. L. Kamen).]

Von Dr. **R. Doerr,** k. und k. Regimentsarzt in Wien.

Im Jahre 1904 brachen unter den in Krakau und Wien stationierten Truppenkörpern Dysenterieepidemieen aus, bei welchen ich mit der Durchführung bakteriologischer Untersuchungen, sowie serotherapeutischer Versuche betraut wurde.

In Krakau wiesen die Erkrankungen einen ziemlich schweren Charakter auf und ein wenn auch kleiner Bruchteil derselben verlief letal; in den Entleerungen fand sich in allen untersuchten Fällen der Shigasche Bacillus. Das Serum der Kranken agglutinierte von der 2. Krankheitswoche an diesen Bacillus und alle mit ihm identischen Stämme; Flexnersche Stäbchen wurden zwar auch nicht selten beeinflußt, aber doch in niedrigeren Verdünnungen (Tabelle V). Die Erfolge der Behandlung mit einem antitoxischen, im Wiener serotherapeutischen Institute (Prof. Paltauf) hergestellten Serum, das bei einer allerdings kleinen Zahl von Fällen zur Verwendung kam, sollen an anderer Stelle kritisch besprochen werden. Die morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften der gezüchteten Ruhrstäbchen wichen in keiner Richtung von dem Kruse-Shigaschen Typus ab, der ja in den vielen Mitteilungen über bacilläre Ruhr eine eingehende und erschöpfende Besprechung erfahren hat.

Anders verhielt sich die Epidemie in Wien, bei der es gelang, in zahlreichen Fällen Stäbchen nachzuweisen, die mit den von Flexner zuerst beschriebenen identifiziert werden konnten. Die Seltenheit derartiger Beobachtungen rechtfertigt gewiß eine Mitteilung der erhobenen Befunde; außer englischen und amerikanischen Autoren [Flexner[2]), Strong[3]), Vedder und Duval[4])] hat nur Jürgens eine Flexner-Epidemie (in Gruppe) studiert; seine fleißigen und umfangreichen Untersuchungen sind in Bd. LI der Zeitschr. f. klin. Med. veröffentlicht. Die von Leiner[5]) bei Kinderdysenterie gefundenen Mikroorganismen sind mit dem Flexnerschen Bacillus nur nahe verwandt, aber nicht artgleich, wie später noch genauer erörtert werden soll.

Der Nachweis aber, daß dieser Ruhrerreger auch in unseren Gegenden häufiger auftritt, als es bisher den Anschein haben könnte, hat nicht nur einen theoretischen Wert, sondern muß auch bei allen Bestrebungen einer ätiologischen Ruhrtherapie und Prophylaxe in Hinkunft berücksichtigt werden.

Die folgenden Details über die Art der Verbreitung der Epidemie und den klinischen Verlauf der Erkrankungen verdanke ich Herrn Stabsarzt Dr. Franz (Chef der Infektionsabteilung des Garnisonsspitals No. 1

---

[1]) Nach einem Vortrage, gehalten in der Sitzung des wissenschaftlichen Vereines der Militärärzte in Wien am 14. Januar 1905.

[2]) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900, Bd. XXX. 1901.

[3]) Journ. Amer. med. assoc. Vol. XXXV. 1900. p. 498 and Report of the surgeon general of the army. Washington 1900.

[4]) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902.

[5]) Wiener klin. Wochenschr. 1904.

in Wien), dem ich auch sonst für die liebenswürdige Förderung meiner Arbeit zu großem Danke verpflichtet bin.

Die Epidemie betraf die in der Rudolfskaserne in Wien dislozierte Mannschaft des Infanterieregimentes No. 60, des 2. bosnischen und 21. Feldjägerbataillons, ferner des Ulanenregimentes No. 3. Der erste Ruhrkranke wurde anfangs Juni dem Spital übergeben. Derselbe war wenige Tage zuvor aus Bosnien nach Wien eingerückt, hatte also die Infektion in seiner Heimat oder zumindest am Wege acquiriert. Zwischen diesem und dem nächsten Falle lag aber ein Intervall von 6 Wochen, so daß ein ursächlicher Zusammenhang dieser eingeschleppten Erkrankung mit den folgenden Fällen von vornherein unwahrscheinlich war.

Die bakteriologische Untersuchung der Faeces ergab in der Tat bei diesem ersten Patienten Kruse-Shiga in Reinkultur, bei allen späteren, wie schon erwähnt, immer nur Flexnersche Stäbchen. Demnach muß, da eine Einschleppung von anderer Seite nicht eruierbar war, die Epidemie, die sich im ganzen auf 51 Soldaten erstreckte, als eine autochthone bezeichnet werden.

Die Verbreitung des Ansteckungsstoffes geschah, wie mit Sicherheit festgestellt wurde, durch die mit der Defäkation verbundene Verunreinigung der Aborte. Die Durchführung energischer Maßnahmen, die dem ungleichen Bildungsgrade der Soldaten angepaßt waren und hauptsächlich darin bestanden, daß die Aborte mit Kalkmilch desinfiziert, die Wände, Sitzbretter, Türen, besonders die Klinken mit demselben Desinfektionsmittel mehrmals täglich übertüncht wurden, ferner darin, daß eine sorgfältige Reinigung der Hände vor den Mahlzeiten und nach jedem Stuhlgange angeordnet und strenge überwacht wurde, führte tatsächlich ein baldiges Erlöschen der Seuche herbei.

Der klinische Verlauf der einzelnen Fälle konnte im allgemeinen als ein milder bezeichnet werden. Der Symptomenkomplex war stets charakteristisch: Entweder keine oder nur kurz andauernde Prodromalerscheinungen, bestehend in Mattigkeit, unbestimmten leichten Schmerzen im Abdomen; dann traten plötzlich unter Temperatursteigerung diarrhoische Entleerungen auf, welche anfangs meist nur wässerig und braun gefärbt waren, bald aber schleimige, von blutigen Streifen durchsetzte Massen enthielten und endlich nur mehr aus Blut und Schleim bestanden. Die Kranken klagten über hochgradigen Tenesmus und Schmerzen im Unterleibe, welche bei Palpation immer am intensivsten in der Gegend des Colon descendens und der Flexura sigmoidea empfunden wurden; nur selten war die Druckempfindlichkeit auch auf den Blinddarm und den absteigenden oder queren Colonanteil ausgedehnt. Die Temperatur, die am 1. Tage zuweilen 40° erreichte, begann gewöhnlich schon nach 24 Stunden zu sinken und erreichte am 3. oder 4. Krankheitstage normale Werte. Die Zahl der Entleerungen verringerte sich jedoch mit dem Temperaturabfalle nicht, sondern ging erst nach mehreren Tagen herunter. Dann näherte sich auch das Aussehen der Faeces allmählich dem normalen, doch blieb selbst der geformte Stuhl noch längere Zeit hindurch in blutigen Schleim eingehüllt. Von Begleiterscheinungen waren im allgemeinen hervorzuheben: Eingenommensein des Kopfes, Gefühl von hochgradiger Schwäche, in schweren Fällen Somnolenz. Das Verhalten des Herzens und Pulses war in den ersten Tagen der Erkrankung der Höhe des Fiebers entsprechend; im späteren Stadium nach dem Temperaturabfalle und während der Rekonvaleszentenperiode zeigte sich die Herzaktion vielfach großen Schwankungen unterworfen. Etwa in einem Drittel aller Fälle bestand namentlich bei horizontaler Lage Bradykardie; Pulsfrequenzen von 48 und auch weniger Pulsschlägen von mehrtägiger Dauer gehörte nicht zu den Seltenheiten. Nach der geringsten körperlichen Anstrengung, oft schon durch bloße Veränderung der Körperlage, stieg die Frequenz unverhältnismäßig hoch, manchmal auf 120—132, wobei zuweilen auch leichte Störungen in der rhythmischen Folge zu verzeichnen waren. Von sonstigen Komplikationen ist einmal aufgetretene, bei Dysenterie schon mehrfach beschriebene starke Conjunctivitis hervorzuheben. In einem anderen Falle kam während der Rekonvaleszenz Appendicitis zur Entwickelung, von der schwer zu entscheiden war, ob sie im unmittelbaren Zusammenhange mit der Ruhrerkrankung oder auf anderer Grundlage entstanden war. Dasselbe gilt auch von einem weiteren Falle, wo sich kurze Zeit nach überstandener Dysenterie typische Erscheinungen eines Zwölffingerdarmgeschwüres einstellten.

Alle 51 Fälle endeten mit Genesung, und zwar durchschnittlich nach 28 Tagen. Die bakteriologische Untersuchung der Ruhrstühle wurde in Wien in 29 Fällen durchgeführt und konnte der dem Typus Flexner zuzurechnende Bacillus bei 12 Kranken nachgewiesen werden. Von den 17 negativen Resultaten entfallen 7 auf die ersten Mitte Juli aufgetretenen Erkrankungen, die nicht das typische klinische Verhalten echter Dysenterie zeigten, sondern unter dem Bilde eines heftigen Enterokatarrhs verliefen. Die Stühle waren nicht schleimig-blutig, sondern wässerig, rochen schwach fäkulent, waren gallig gefärbt; auf Drigalski-Platten entwickelten sich ausschließlich Coli-Kolonieen, und zwar bei approximativ gleicher Menge der Aussaat in viel größerer Anzahl als Ruhrkolonieen aus den dysenterischen Stühlen dieser Epidemie, so daß die 3.—4. Verdünnung noch immer sehr dichte Platten ergab, während bei typischen Ruhrfällen die 2. Platte nur wenige, die 3. in der Regel keine Keime mehr aufwies. Zahlenmäßig wurden diese Verhältnisse allerdings nicht bestimmt; doch war das Züchtungsverfahren in allen Fällen das gleiche, insbesondere wurden, wie betont, die Platten immer mit möglichst gleichgroßen Stuhlmengen beschickt, und die Differenz war eine so bedeutende, daß man auch bei der Flexner-Dysenterie eine auffällige Keimarmut der Entleerungen gegenüber den Faeces bei Enterokatarrhen und im Verhältnis zu Cholerastühlen konstatieren muß. Ueber die Kruse-Ruhr ist Aehnliches von vielen Seiten (Kruse, Drigalski, Doerr etc.) berichtet worden. 8 andere Fälle mit negativem Ausfall der Stuhluntersuchung waren solche, bei denen die Entleerungen erst zu einer Zeit zur Untersuchung gelangten, wo die Ausleerungen das charakteristische Aussehen bereits verloren hatten, kotig waren und nur wenige oder gar keine schleimig-eiterigen Partieen mehr enthielten. Ueber die restlichen 2 Fälle soll später berichtet werden.

Zur Züchtung wurde ausschließlich Drigalskisches Agar verwendet. Die blauen, durchsichtigen Kolonieen wurden nach 24 Stunden in Traubenzuckeragar abgeimpft; trat nach weiteren 24 Stunden keine Gasbildung ein, so wurden sie auf die Barsiekowschen Nährböden übertragen. Die Stämme, die hier das für Flexner-Bacillen typische Verhalten zeigten (Mannit- und Traubenzuckerröhrchen rötlich, schwach opalisierend, Milchzuckerröhrchen blau), wurden dann der weiteren Prüfung mit einem hochwertigen Flexner-Immunserum unterzogen und schließlich ihr Verhalten auf Kartoffeln, im Gärungskölbchen, in

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Bouillon, auf Gelatine, in Peptonwasser (Indolbildung) und in Lackmusmolke (Säurebildung) festgestellt.

Tabelle I.

No.	Krankheitstag	Beschaffenheit der Stühle	Züchtungsresultat auf Drigalski-Agar
1	3.	diffus hellrot gefärbter Schleim (himbeergeleeartig) mit eingesprengten, gelbweißen, eiterigen Streifen, Spermageruch.	Ruhrbacillen in vollständiger Reinkultur.
2	5.	rötlich-braun, spermaähnl. riechend, reichl. eitrig, wenige Schleimflocken.	Ruhrbacillen, nur vereinzelte Coli.
	8.	do., fade riechend.	Ruhr- und Colibacillen zu gleichen Teilen.
	11.	do.	do.
	13.	do.	überwiegend Coli, vereinz. Ruhrbac.
	16.	kotig, fäkulent riechend.	nur Coli, Ruhrb. nicht nachweisbar.
3	2.	wässerig, braun, reichlich Schleim- und Eiterflocken, nicht fäkulent riechend.	mäßig reichlich Ruhrbacillen, zahlreiche Coli.
4	3.	so wie 3.	überwiegend Ruhrbac., daneben Coli.
5	4.	so wie 1.	überwiegend Coli, daneben mäßig reichliche Ruhrbacillen.
6	5.	blutig, mit Schleim- u. Eiterflocken.	so wie 5.
7	5.	do.	do.
8	3.	blutiger Schleim mit eitrigen Streifen.	Ruhrbacillen in Reinkultur.
9	3.	wässerig, gallig gefärbt, fade riechend, mit großen Schleimflocken.	überwiegend Ruhrbacillen, daneben mäßig reichlich Coli.
10	3.	so wie 1, Spermageruch.	Ruhrbacillen in Reinkultur.
11	3.	do.	Ruhrbacillen fast in Reinkultur, vereinzelte Coli.
12	4.	do.	do.

Die gezüchteten 12 Stämme verhalten sich morphologissh und kulturell vollkommen gleich.

Es handelt sich um plumpe, kurze, dicke Stäbchen, die sich mit Anilinfarben leicht tingieren lassen, Gram-negativ sind, Polkörner zeigen und vollkommen unbeweglich sind. Nur beobachtet man im hängenden Tropfen mit der Immersionslinse häufig lebhaftes molekulares Zittern. Die Darstellung von Geißeln glückte weder nach Loeffler noch nach van Ermenghem, wobei Kontrollpräparate von Coli-, Typhus-, Paratyphusstämmen, unter denselben Bedingungen hergestellt, stets gelangen.

Bouillon wird gleichmäßig getrübt und bleibt trübe, ein Oberflächenhäutchen gelangt nicht zur Entwickelung. Desgleichen bleibt wenigstens bis zu 30 Stunden die Bildung von mikroskopischen Häufchen aus, so daß die Bouillonkulturen sich gut zu mikroskopischen Agglutinationen mit Patientenseris eignen. Der Krusesche Bacillus verhält sich in dieser Hinsicht etwas abweichend; 2 von Kruse herrührende Stämme lassen die Bouillon klar und bilden ein Sediment, zeigen also eine Tendenz zur Spontanagglutination, die ich allerdings bei anderen Stämmen der Kruse-Shiga-Gruppe nicht wieder antraf.

Tabelle II.

	12. Stämme aus Wien 1904	Flexner (Král)	Jürgens (Gruppe)	Kruse-Shiga-Stämme	Leiner		
					Gretlinger	Brunner	Hammer
Bouillon	diffus, getrübt, keine Oberflächenhaut, klärt sich nicht	do.	do.	do. (nur Original-Kruse-Stämme lassen die Bouillon klar, bilden Sediment)	wie Flexner		
Gelatine	weinblattartig, zarter als gleichaltriges Coli aus normalem Stuhl, diktyodrome Zeichnung undeutlich			do., diktyodrome Zeichnung deutl.	wie Flexner		
Agar	weißer, üppiger Rasen, Spermager.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Drigalski-Agar	blau, tautropfenähnlich, nach 24 Stunden diktyodrome Zeichnung		do.	do.	do.	do.	do.
Barsiekow- Milchzucker	blau, wenig getrübt	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Barsiekow- Traubenzucker	rot, opalisierend	do.	do.	do.	do.	do., stark opalisier.	rot, opalisierend
Barsiekow- Mannit	rot, leicht getrübt	do.	do.	blau	rot	rot, opalisierend	rot
Petruschkysche Lackmusmolke	anfänglich Säurebildung, später Umschlagen der Reaktion ins Alkalische; das Aciditätsmaximum bei Shigaschen Stämmen etwas geringer als bei Flexner						
Kartoffel	typhusähnlich, gelblich-weißer Rasen						
Traubenzuckerstich	kein Gas, Wachst. längs d. Stichkanals	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Peptonwasser	—	Indol	Indol	—	Indol	Indol	Indol
Neutralrot	nicht reduziert	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Milch	nicht koaguliert	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Wird agglutiniert durch Flexner-Immunserum	1 : 2000	1 : 2000	1 : 2000	0	1 : 400	1 : 800	1 : 100
Durch Kruse-Immunserum	0	0	0	1 : 2000	0	0	0
Durch Patientensera der Wiener Epidemie	1 : 400	1 : 400	1 : 400	0	nicht geprüft	1 : 100	nicht geprüft

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bakteriologischer Befund bei spontaner vesikaler Pneumaturie eines diabetischen Kranken.

[Aus dem pathologischen Laboratorium (Prof. Ruitinga) der Universität in Amsterdam.]

Von Dr. **J. J. van Loghem,** Assistenten.

Spontane Pneumaturie ist ein relativ seltenes Symptom, über welches in bakteriologischer Hinsicht nur ganz unvollständige Daten vorliegen; es sei also gestattet, über einen Fall, der einer genaueren Untersuchung unterzogen worden ist, an dieser Stelle zu berichten.

Der 65-jährige J. H. wurde am 2. Nov. 1904 auf die chirurgische Abteilung des Herrn Dr. D. Mac Gillavry im hiesigen Krankenhause der „Gereformeerde Vereeniging voor Ziekenverpleging“ mit Harnbeschwerden aufgenommen. Der Kranke gab an, stets gesund gewesen zu sein — eine Bandwurmkrankheit vor 26 Jahren ausgenommen — bis er am 28. Okt. 1904 plötzlich nicht urinieren konnte; am Abend desselben Tages wurde diese Retention von wiederholten Entleerungen kleiner Portionen Harnes gefolgt. Großer Schmerz und Neigung zur Defäkation begleiteten diese Pollakurie. Nach einigen Tagen kam eine Hämaturie dazu. Dann wurde Patient aufgenommen und sofort bei seiner Aufnahme katheterisiert (1200 ccm).

Aus dem Status praesens, am nächsten Tage (3. Nov.) erhoben, führe ich nur an, daß bei dem seiner Schmerzen wegen sehr unruhigen Kranken ein fortwährendes Harnträufeln bestand, indem die Blasendämpfung bis zum Nabel reichte. Mittels Katheterisierung wurden etwa 1000 ccm trüben, nur wenig alkalisch riechenden Harnes entleert. Die Flüssigkeit war stark blutig tingiert und enthielt Koagula. Bei rektaler Untersuchung fand man eine mäßige Vergrößerung der Prostata und eine härtere, etwas höckerige Stelle der hinteren Blasenwand, insbesondere nach links; letztere war beweglich in Beziehung zur Prostata.

Temperatur normal, Respiration frequent. Herztöne nicht ganz rein. Defäkation normal. Bronchitis catarrhalis.

Der Kranke wurde während seines Aufenthaltes im Spital täglich katheterisiert, die Blase darauf anfangs mit Salicylsäurelösung $^1/_{600}$, später mit 1-prom. Silbernitrat ausgespült. Die Harnmenge betrug etwa $1^1/_2$ –2 l, wovon zwei Drittel bis die Hälfte spontan entleert wurden.

Am 6. Nov. (4 Tage nach der Aufnahme), als der Kranke katheterisiert wurde, spritzte der Harn stark schäumend aus dem Instrumente heraus, sobald dieses in die Blase gelangte. Auch am nächsten Tage entleerte sich gashaltiger Urin; dann verminderte sich die Pneumaturie allmählich und war am 14. Nov. ganz verschwunden. Vom 9. Nov. an war die Blase anstatt mit Salicyl mit Silbernitrat gespült worden.

Die Harnuntersuchung, von Dr. Steensma vorgenommen, ergab: saure Reaktion; sp. G. 1026; Geruch nach flüchtigen Fettsäuren; viel Eiweiß; Glykose (9. Nov 2,5 Proz., 12. Nov. 0,8 Proz., 14. Nov. 0,2 Proz. [seit 12. Nov. antidiabetische Diät]). Reaktion auf Aceton und Diacetsäure negativ. Spur Alkohol.

Reichliches Sediment, bestehend aus roten und weißen Blutzellen. Keine Hefezellen. Viele Stäbchen, teils beweglich.

Bei der Analyse des Gases (am 8. Nov. waren 360 ccm zu diesem Zwecke während der Katheterisation aufgefangen) wurde die Hälfte als Kohlensäure bestimmt; die andere Hälfte, ohne Geruch, brannte mit blauer Flamme.

Nachdem die Pneumaturie ganz verschwunden war, stellten sich im weiteren Verlauf Remissionen ein, die erheblich geringeren Grades waren. Der Harnbefund blieb übrigens im allgemeinen derselbe, nur war die Trübung etwas gebessert.

Am 16. Nov. fing der Kranke an zu fiebern, die lokalen Symptome einer katarrhalischen Pneumonie traten hinzu. Der Exitus letalis erfolgte am 30. Nov.

Aus einer Portion Harn, von Dr. Mac Gillavry unter aseptischen Kautelen der Blase entnommen und behufs bakteriologischer Untersuchung mir übersandt, gelang es, zwei Mikroorganismen — einen Coccus und einen Bacillus — reinzuzüchten, welche beide sowohl in den anaërob (Methode Roux unter Wasserstoff) als in den aërob angelegten Kulturen gewachsen waren.

Den Coccus, der sich nicht nach Gram entfärbte, die Gelatine nicht verflüssigte, keine Eigenbewegungen zeigte, auf Agar als grauweiße, wenig prominente, isolierte Kolonieen wuchs, und im normalen sowie im diabetischen Harne ohne Gasbildung einen ammoniakalischen Geruch herbeiführte, habe ich nicht weiter verfolgt.

Ueber den Bacillus aber, der auch schon bei der mikroskopischen Untersuchung des Harnes konstatiert worden war, fast alle Kolonieen der Gelatineplatten gebildet hatte und unter gewissen Bedingungen Kohlensäure und brennbares Gas zu bilden sich im stande zeigte, kann ich die Resultate einer genaueren Untersuchung mitteilen.

Der Bacillus ist ein an beiden Enden abgerundetes Stäbchen von inkonstanter Länge und Breite.

In den jüngeren Kulturen überwiegen die längeren Formen, in den älteren die kürzeren. Der Organismus ist stark eigenbeweglich; die Bewegungen sind wackelnd und erinnern an jene des Bacillus subtilis. Er färbt sich mit den gewöhnlichen Färbemitteln, am schönsten mit Karbolthionin nach Nicolle, durch welches sehr deutlich zu Tage tritt, daß die beiden Pole sich bedeutend intensiver färben als der mittlere Teil des Körpers. In jüngeren Kulturen finden sich viele Individuen, welche sich nach Gram nicht entfärben, in Kulturen, die älter als 24 Stunden sind, zeigen sich solche nur sporadisch.

Im allgemeinen sind die Stäbchen voneinander isoliert, in den Kulturen findet man Formen, die aus zwei, selten aus drei Individuen bestehen.

Cilienfärbung nach Löffler, ohne Modifikation, gelingt am schönsten mit auf Glykose gewachsenen Bacillen; die Länge der Cilien ist 2—3mal so groß wie jene des Bakterienkörpers. Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Gewöhnliche Nährbouillon wird durch das Wachstum dieser Stäbchen in 24 Stunden bei Zimmertemperatur getrübt; bei 24° und auch bei 37° bildet sich in derselben Zeit außerdem ein Bodensatz und ein weißer Ring an der Wand des Glases in der Höhe der Oberfläche der Nährflüssigkeit. Die Kultur klarifiziert sich nicht.

Auf Agar-Agar bilden die Organismen in 24 Stunden einen grauweißen, schleimigen Belag; dieser ist durchscheinend, etwas unregelmäßig fleckig. Auf der Oberfläche von Glykoseagar hat der Belag eine etwas hellere Farbe.

In Glykose enthaltenden Nährböden tritt starke Gasbildung auf; die Glykoseagarsäule wird gespalten und mit linsenförmigen Blasen durchsetzt.

In Gelatineplatten erscheinen nach 48 Stunden bei 24° C kleine, gelbweiße Kolonieen, die am nächsten Tage einen deutlichen Verflüssigungshof aufweisen. Die jüngeren Kolonieen sind mikroskopisch homogen und scharf konturiert; die älteren sind granuliert und es treten von diesen einzelne Partikel in den Verflüssigungshof hinein.

In der Gelatinestichkultur ist der Stichkanal nach 24 Stunden weißlich getrübt und von kleinen weißen Kolonieen wie von einem Spitzenschleier umgeben. Der Anfang der Verflüssigung ist an der Oeffnung des Kanales schon sichtbar. Nach 48 Stunden ist der Kanal in einer Verflüssigungstasche aufgenommen, die wieder von kleinen weißen Kolonieen umgeben ist. Keine Gasbildung.

In 2 Proz. Peptonwasser konstatiert man nach einigen Tagen eine starke Indolbildung.

In normalem Harn veranlassen die Organismen ammoniakalische Gärung; auch auf Schwefelwasserstoff kann nach geringem Schwefelzusatz leicht reagiert werden.

Im diabetischen Harne (5,8 Proz. Glykose) tritt nach 12—24 Stunden (bei 37° C) starke Gasbildung bei schwachsaurer Reaktion auf; brennbare Gase wurden nicht nachgewiesen, nur Kohlensäure.

In gewöhnlicher Nährbouillon, mit etwa 1 Proz. sterilen Hühnereiweißes gemischt, fand bei 37° auch Gasbildung statt. Dieses Gas war brennbar.

Eine 5 Tage alte, lebendige Bouillonkultur wurde durch eine 25 Minuten dauernde Erhitzung auf 58—60° C getötet.

Die Pathogenität konnte für Kaninchen und Cavia festgestellt werden; 2 ccm einer Bouillonkultur, unter die Haut einverleibt, führten innerhalb 18 Stunden den Tod herbei. Die Bacillen konnten in großen Mengen in der Milz und der Peritonealflüssigkeit wiedergefunden und aus dem Blute des rechten Herzventrikels und aus der Milz des Kaninchens wieder gezüchtet werden. Eine celluläre Reaktion an der Injektionsstelle fehlte.

Charakteristisch war der Unterschied zwischen den bacillären Formen in der Milz des Kaninchens und in demselben Organ der Cavia; beim Kaninchen erreichten die Individuen eine entschieden größere Länge.

Die genannten Eigenschaften des Bacillus — d. h. die fakultative Anaërobie, der Pleomorphismus, die Eigenbeweglichkeit, das Verhalten gegenüber Färbemitteln, die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, Indol, Schwefelwasserstoff und brennbares Gas zu bilden, Glykose und Ureum zu vergären und die Pathogenität für Kaninchen und Caviae — besitzt der Proteus vulgaris (Hauser).

Proteus vulgaris ist kein seltener Befund in der Harnpathologie. Zuerst wurde dieser Mikroorganismus von Krogius im pathologischen Harn nachgewiesen und beschrieben als Urobacillus liquefaciens septicus. Schnitzler züchtete ihn 16mal in 25 Fällen von Cystitis.

Als Erreger der Pneumaturie wurde Proteus vulgaris bis jetzt nie genannt.

Im Jahre 1883 hat Guiard 7 Fälle von Pneumaturie aus der Literatur und aus eigener Erfahrung zusammengestellt; seitdem veröffentlichten Duménil (1883), Senator (1888), Müller (1889), Heyse

(1894), Schnitzler (1894) und Naunyn (1898) jeder einen einzelnen. In den meisten Fällen handelte es sich, wie in unserem, um diabetische Patienten. In zwei von Guiard und in den beiden von Heyse und Schnitzler beschriebenen Fällen soll keine Glykosurie im Spiele gewesen sein.

In den älteren Fällen, sowie auch in denjenigen Senators und Naunyns wurden Hefepilze als Ursache der Pneumaturie angenommen oder gefunden. Im Falle Müllers, in welchem das Gas aus Wasserstoff, Kohlensäure, Stickstoff und geringen Mengen Methan und Sauerstoff bestand, gelang es nicht, den Erreger zu bestimmen.

Heyse fand bei seinem nicht diabetischen Kranken den Bacillus lactis aërogenes; Schnitzler isolierte den Bacillus coli communis; es bleibt indessen unklar, aus welchen Substanzen, falls Glykose nicht zugegen war, der Coli Gas gebildet hat.

Weil der Tod bei dem Patienten von Dr. Mac Gillavry eintrat, an demselben Tage, als die Reinzüchtung der Harnorganismen eben beendet war und die weitere Charakterisierung anfangen sollte, war es mir unmöglich, den gasbildenden Bacillus auf seinem ursprünglichen Nährboden (welcher Eiweiß und andere Blutbestandteile enthielt) zu züchten, um auf diese Weise eine Gasbildung hervorzurufen, welche auch quantitativ jener, während des Lebens beobachteten entsprach.

Gewiß gehen wir aber nicht fehl, wenn wir den Mikroorganismus der in einer beträchtlichen Menge im Harne des Kranken vorhanden war und in glykose- und eiweißhaltigen Flüssigkeiten Kohlensäure und brennbares Gas zu bilden im stande war, als den Erreger der von uns beobachteten Pneumaturie betrachten.

An diese Mitteilung möchte ich die Bemerkung anschließen, daß ich zum Indolnachweis mit Erfolg die Methode benutzte, welche mein Kollege Dr. Steensma zur Isolierung einiger Farbstoffe im Harne ausgearbeitet hat (Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde. Bd. II. 1904. p. 425).

Man gibt zu 100 ccm einer Peptonwasserkultur 10 ccm einer Lösung basischen Bleiacetates (nach der Pharm. Nederl. Ed. III hergestellt). Nach Filtration setze man zu dem Filtrate ein wenig Essigsäure hinzu bis zur saueren Reaktion und schüttle zweimal mit einer gleichen Menge Aether aceticus in einem Scheidetrichter aus. Der Aether aceticus wird mit einer $^1/_4$ seines Volumens betragenden Menge 10-proz. KOH-Lösung ausgeschüttelt. Ein Tropfen einer 0,5-proz. $NaNO_2$-Lösung genügt — nachdem etwas konzentrierte Salzsäure hinzugefügt worden ist — um die violette Farbe, viel schöner als in der trüben Kulturflüssigkeit, hervorzubringen.

Dr. S. wird über die Anpassung seiner Methode an bakteriologische Zwecke später ausführlicher berichten.

Februar 1905.

Benutzte Literatur.

Guyon, F., Leçons cliniques sur les maladies des voies urinaires. T. I. 1894. p. 608.
Heyse, Zeitschrift f. klin. Med. Bd. XXIV. 1894. p. 130.
Kraus, R., Handbuch der Urologie (v. Frisch und Zuckerkandl). 1903.
Krogius, A., Mémoires de la Société de biologie. 1890. p. 65.
Macé, E., Traité de bactériologie. 1904. p. 1062.
Müller, F., Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXVI. 1889. p. 889.
Naunyn, B., Der Diabetes mellitus (Nothnagel). 1898. p. 203.
Schnitzler, Refer. Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XVIII. p. 230.
Zuckerkandl, O., Handbuch der Urologie Bd. I. p. 773.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Trypanosomenfrage.

Von Dr. **Hans Ziemann,**
Marineoberstabsarzt und Regierungsarzt in Kamerun.

(Schluß.)

Wenden wir uns nun zu dem *Trypanosoma vivax* in Kamerun. Dasselbe fand sich bei Rindern, Schafen und Ziegen sehr häufig und in dem ganzen Urwaldgebiet der Küste, besonders in den Flußniederungen (cfr. meinen Bericht über die Expedition zur Erforschung der Bevölkerungs- und Viehfrage). 3 einheimische Hunde, 2 europäische Terrier, 6 Katzen, 23 Schweine zeigten sich bisher überhaupt niemals natürlich infiziert, indes sei bemerkt, daß aus den schon erwähnten Gründen Uebertragungsversuche größerer Mengen vom Blute dieser scheinbar gegen die natürliche Infektion mit *Trypanosoma vivax* immunen Tiere auf andere Versuchstiere etc. nicht stattfanden. Untersuchungen bei 2 Seekühen (*Manatus*), 1 wilden Büffel (*Bos brachyceros*), 1 Leoparden, 7 Zwergantilopen (*Cephalolophus melanorrheus* Gray), 7 grauen Meerkatzen, 1 Gorilla, 2 Schimpansen blieben ebenfalls negativ.

Nur bei einer Zwergantilope gelang es, in Suellaba 23. Okt. 1903 im Herzblute und im Blute der inneren Organe eine halbe Stunde nach eingetretenem Tode zahlreiche kleine, ca. 3—8 μ lange, spindelförmige, $^1/_2$—2 μ breite, ziemlich scharf konturierte, schwach granulierte Parasiten mit starrem Plasmaleibe zu finden, welche meist an dem einen Ende mit einer feinen, 2—4 μ langen Geißel versehen schienen und mit wackelnder Bewegung, welche häufig etwas Rotierendes hatte, sich durch das Gesichtsfeld bewegten, das Geißelende voran.

Leider konnte der interessante Organismus, da weitere Hilfsmittel wegen Entfernung von Duala nicht zur Stelle waren, nicht weiter verfolgt werden (cfr. unten). Sofort vorgenommene Ueberimpfung des Herzblutes auf 2 gesunde Schafe, die ich nach Duala mitnahm. Blutuntersuchung des einen am 26. Okt., 29. Okt., 3. Nov., 7. Nov., 11. Nov. 1903 negativ. Das zweite Schaf 26. Okt., 29. Okt., 3. Nov., 5. Nov. negativer Befund. Am 8. Nov. tot im Stalle gefunden vom Lazarettgehilfen. Leber hätte ausgesehen wie getüpfelt von kleinen, stecknadelkopfgroßen, weißgelblichen Herden. Organe leider in meiner Abwesenheit fortgeworfen.

Trypanosoma vivax zeichnet sich in akuten und frischen Fällen zunächst durch seine oft ungeheure Beweglichkeit aus. Dieselbe läßt ihn wie einen Hecht von einem Ende des Gesichtsfeldes quer zum anderen in einer einzigen mehr oder weniger geraden Linie schießen, so daß eine Beobachtung völlig unmöglich ist. Das Voltenschlagen der Tse-tse-Parasiten, deren Beweglichkeit ja auch sehr groß sein kann, die aber auf einen räumlich beschränkten Platz meist beschränkt bleibt, wurde fast niemals festgestellt.

Der im Gegensatz zu *Trypanosoma Brucei* auch am hinteren Ende meist zugespitzte, schlanke, mit Geißeln versehene, 18—26 μ, ja zuweilen bis 30 μ lange, durchschnittlich 2—$2^1/_2$ μ breite Parasit erinnerte durch seine schlanke Figur sehr an Ratten- bezw. Surratrypanosomen, nur daß seine Beweglichkeit in den ganz akuten Fällen fast noch größer zu sein schien als die der Rattentrypanosomen. Stets geht das Geißelende voran.

Die Rattentrypanosomen machen im Durchschnitt mehr unregelmäßige Vorwärtsbewegungen, indem sie Kurven beschreiben, bezw. plötzlich ruckweise nach anderer Richtung sich vorwärts schnellen. Mit gütiger Erlaubnis von Prof. Ostertag und Mitwirkung seines Assistenten Dr. Krautstrunk wurde das Ultramikroskop benutzt, um bei nur 200-facher Vergrößerung eine möglichst große Blutmenge durchmustern und bei nur spärlicher Infektion die lebhaft beweglichen Parasiten auffinden zu können.

Die Resultate waren nicht unbefriedigend bei 3-facher Verdünnung des betreffenden Blutes. Während man bei Ratten, natürlich infiziert durch Rattentrypanosomen und künstlich durch Tse-tse oder Nagana, die beiden Parasitenspecies ziemlich gut schon im lebenden Blute unterscheiden kann, war dieses bei durch Rattentrypanosomen infizierten Ratten, die mit *Trypanosoma vivax* noch künstlich geimpft waren, unmöglich. Im gefärbten Präparat traten aber die Unterschiede deutlich hervor, indem die Rattentrypanosomen sich durch die charakteristische Lage des Blepharoplast (Centrosoma, Geißelwurzel) auszeichneten. *Trypanosoma vivax* erinnerte gefärbt an den Surraparasiten hinsichtlich des Blepharoplasten, Kerns, undulierender Membran und Geißel.

Der Blepharoplast (Geißelwurzel) liegt also nicht, wie beim Rattentrypanosoma, an der Grenze zwischen mittlerem und hinterem Körperdrittel, sondern mehr oder weniger ziemlich unmittelbar in der Nähe des hinteren Körperendes.

Professor Laveran, dem ich eine größere Reihe von Präparaten sandte, konnte in diesen morphologisch nicht den geringsten Unterschied gegenüber den Surraparasiten bemerken. Die Teilung erfolgt durch Längsteilung nach dem Schema, wie es bereits für den Tse-tse-Parasiten beschrieben ist. Details betreffs Teilung des Blepharoplasten, des Kerns, der Geißel etc. erübrigen sich an dieser mehr der epidemiologischen Betrachtung gewidmeten Stelle. Ueber ein etwaiges Auftreten von geschlechtlichen Parasiten, wie ich sie beim Tse-tse-Parasiten gefunden, sowie eventuelle Konjugation will ich mich erst nach Abschluß der Untersuchungen äußern. Auch bei ihnen haben wir, selbst in frischen Infektionen, neben den sehr beweglichen weniger bewegliche Formen zu unterscheiden. Mindestens ist bei *Trypanosoma vivax* eine geschlechtliche Differenzierung viel schwieriger wie beim Nagana- oder Tse-tse-Parasiten (*Trypanosoma Brucei*).

Eine Mutabilität bei den künstlich geimpften Tieren hinsichtlich der Form, ließ sich, wie erwähnt, nicht feststellen, nur schien die Beweglichkeit allmählich nachlassen zu können, und bemerkte ich dies besonders bei *Trypanosoma vivax* in chronischen Fällen und während der Heimreise, indem, in je kälteres Klima wir kamen, die Beweglichkeit immer geringer wurde, speziell bei einem deutschen Schafe, welches von einem immunisierten, aber noch zeitweise Trypanosomen im Blute aufweisenden Schaflamm geimpft wurde. Klimaveränderung wirkt bekanntlich bei Malariakranken meist sehr günstig.

Verbreitung des *Trypanosoma vivax*.

Dasselbe fand ich außer in Kamerun bisher noch bei Schafen aus der spanischen Kolonie Batta im Süden Kameruns. Wieweit *Trypanosoma vivax* im Innern Kameruns vorkommt, mögen weitere Untersuchungen lehren. In Jaunde kommt Trypanosomeninfektion vor, auch in der Landschaft Tinto, höchstwahrscheinlich auch in den Niederungen von Adamaua. Die von mir während der Expedition im gebirgigen Hinterlande (Bakossi, Manenguba) und im Kamerungebirge untersuchten Rinder waren bis jetzt überhaupt frei von Trypanosomeninfektion. In den ungeheuren Urwaldgebieten Kameruns sind, wie schon erwähnt, von den Haustieren die Rinder, Schafe und Ziegen Träger der Infektion.

Ich kann hier unmöglich die recht komplizierte Viehfrage Kameruns erörtern, verweise daher auf den Expeditionsbericht (l. c.), woselbst sich auch Hinweise auf andere Tierkrankheiten finden.

Die Vieharmut, speziell an Rindern, ist im Küstengebiet eine große. Es spielen dabei eine Rolle nicht nur Trypanosomen und Piroplasmen [letztere trotz ihrer Verbreitung bei dem einheimischen Vieh im allgemeinen von geringerer pathologischer Bedeutung, mit Ausnahme der scheinbar ziemlich pathogenen Esel- und Katzenpiroplasmen (l. c.)]. Auch eine Fülle anderer Faktoren, wie Mangel an Weide, Mißbräuche im Weidegange etc. kommen in Betracht. Die Verbreitung des *Trypanosoma vivax* ist jedenfalls nach Ort, Zeit und Art der gehaltenen Haustiere verschieden. In Kribi fand ich z. B. am 30. Dezember 1902 unter 8 Ziegen keine, unter 8 Schafen nur 1 Infektion mit *Trypanosoma vivax*.

Rinder.

Die einzelnen Rinder, die, aus dem Gebirge zur Küste getrieben, zur Beobachtung gelangen, geben keinen Maßstab für die Verbreitung der Infektion, da dieselben als schon mehr oder weniger immun gewordener Rest zu betrachten sind. Trotzdem fand ich bei den regelmäßigen Untersuchungen der jeden Dienstag und Freitag geschlachteten Rinder noch 3 von 40 = 0,75 Proz. infiziert. Rindertuberkulose habe ich, beiläufig gesagt, bei im ganzen untersuchten 133 Rindern in Duala, soweit es sich um einheimische Rasse handelte, noch nie gefunden, wohl aber 2mal bei aus Deutschland (Allgäu) nach Bula im Kamerungebirge importierten Rindern, ebenso bis jetzt noch nie Lungentuberkulose bei Negern, die mit Sicherheit noch nie den Küstenstrich verlassen hatten. Mindestens 80 Proz. der Gebirgsrinder, welche nach der Küstengegend zur Schlachtung kommen, sterben vorher, auf Grund vergleichender Untersuchungen unzweifelhaft hauptsächlich an Trypanosomeninfektion, nach übereinstimmenden Mitteilungen der Neger oft schon 4—5 Tage, nachdem sie in der Ebene angelangt. 6 nach Jabassi bei Duala geschaffte, äußerst kräftige Rinder aus Madeira starben dort in der Wörmannfaktorei innerhalb 2 Monaten. In Duala war eine kleine Herde Gebirgsvieh von 21 Köpfen, von dem Häuptling Manga Bell gehalten. Von dieser fielen im Juli, August

1902 annähernd 50 Proz. einem epidemieartigen Ausbruch einer Krankheit, die mit Sicherheit als Trypanosomeninfektion wegen der klinischen Symptome zu bezeichnen ist, zum Opfer, trotzdem die Tiere schon Monate, zum Teil Jahre dort waren. Nachdem die Herde in einer neuen trockneren Fenz sich acclimatisiert hatte, fand ich bei mikroskopischen Untersuchungen im November 1902, soweit solche bei der Wildheit der Tiere möglich, 20 Proz. noch im Zustande der chronischen Infektion; doch waren die von Natur kleinen Tiere im besten Ernährungszustande. Auf dem Weideplatze der katholischen Mission gediehen die Rinder ebenfalls bis jetzt gut. In einer kleinen Herde von 22 Köpfen aus Groß-Batanga im Südbezirk fand ich Januar 1903 bei 9 untersuchten Kälbern 3 = $33^{1}/_{3}$ Proz. chronisch infiziert. Daselbst hatte sich bei relativ gutem Futter und frischer Seebrise eine junge Zucht gebildet. Im Mungothal in Bombe waren Dezember 1903 die wenigen Tiere des Dorfes, 9 Stück, sehr elend, eins zeigte *Trypanosoma vivax* im peripheren Blute. Die 16 Rinder der Station Johann Albrechts-Höhe schienen sämtlich der chronischen Infektion verdächtig (Dezember 1903). Das Tal des Mungo bringt für gesundes Rindvieh, welches, von dem Manengubagebirge hindurch kommend, nach den Pflanzungen des Kamerungebirges getrieben wurde, fast sicheres Verderben. Bei wiederholten Versuchen mit kleineren Transporten aus dem Bakossigebirge gingen stets 80—90 Proz. ein. In Nyanga am Dibombe waren 3 von 6 Rindern = 50 Proz. infiziert (November 1903). (cfr. Bericht.) Die Infektion schien im Bereiche der Süßwasserzone etwas stärker als im Bereiche der Brackwasserzone.

Schafe und Ziegen.

Einen besseren Maßstab für die Verteilung des *Trypanosoma vivax* gibt die Infektion der in den Negerdörfern des Urwaldgebietes verstreut sich findenden Schafe und Ziegen. Die letzteren werden im Gegensatz zu den Rindern, die meist vom Gebirge gehandelt werden, an Ort und Stelle geboren, scheinen also immerhin eine gewisse Resistenz gewinnen zu können. Die aus dem Hochlande des Innern angetriebenen Schafe und Ziegen gehen auch zu durchschnittlich 40—80 Proz. nach Passieren der trypanosomenverseuchten Niederungen ein (cfr. Expeditionsbericht). Schafe und Ziegen waren ziemlich in gleicher Weise betroffen, Schafe vielleicht durchschnittlich noch etwas mehr als die Ziegen. In Duala fand ich Januar 1903 die Infektion mit *Trypanosoma vivax* bei 4 von 24 Köpfen = 16,6 Proz., in Suellaba Dezember 1902 bei 9 von 41 Köpfen = 22,0 Proz., ebenso im Oktober 1903 in Jabassi am Wuristrom bei 6 von 12 = 50 Proz. und dito in Mundame am Mungo Dezember 1903 bei 4 von 8, im Vorgelände des Manengubagebirges, in Lum, in 220 m Höhe November 1903 nur noch bei 1 von 21 Köpfen = 4,8 Proz., in Nyanga beim Dibombeflusse bei 2 von 12 Schafen = 16,6 Proz. u. s. w.

Die Zahl der gelegentlich untersuchten Schafe und Ziegen, die zur Schlachtung kamen, ist noch größer.

Aeußerst wichtig ist für Nachuntersuchungen, daß zeitlich je nach der Jahreszeit die Infektion eine sehr verschiedene war. Ich habe auffallenderweise bei Beginn der Regenzeit und zwar Ende April, Mai, Juni, Juli 1903, also über 3 Monate lang keine frische Infektion in Duala feststellen können, konnte aus diesem Grunde auch keine Versuchstiere, wie verlangt war, nach Togo schicken.

Auf der Höhe und am Ende der Regenzeit, Ende Juli, August und anfangs September 1903 kam es zu einem starken Ausbruch der Epidemie, die auch einheimisches, bezw. schon bis dahin acclimatisiertes Vieh ergriff und zum Teil dahinraffte, darunter selbst Schafe und Ziegen. Wir müssen uns vorstellen, daß die Infektion an sich während des ganzen Jahres durch die chronischen Fälle unterhalten wird, wie ich durch die ständigen Blutuntersuchungen erweisen konnte, daß aber die Neuinfektionen in eine bestimmte Periode des Jahres fallen, oder noch präziser, daß sie in gewissen Monaten des Jahres mindestens recht selten werden.

Ich glaube daher, ganz ähnlich wie bei der Malaria, das Vorhandensein einer nach der Jahreszeit wechselnden Kurve bezüglich Häufigkeit der **frischen** *Trypanosoma vivax*-Infektion behaupten zu dürfen. Diese für die Epidemiologie und Prophylaxe so wichtige Annahme bedarf natürlich noch weiterer Untersuchungen, um so mehr als die Regenzeit und Trockenzeit 1903 manches Absonderliche boten.

Es wird also unsere Aufgabe sein müssen, die Epidemiologie der Trypanosomeninfektion in mehrjähriger Beobachtung genau so in ähnliche Beziehung zur Biologie der die Infektion übermittelnden stechenden Insekten zu bringen, wie wir es bei der Malaria getan haben.

Die Morbidität und Mortalität der nicht im Küstengebiet oder in angrenzenden Gebirgsgegenden geborenen Rinder und Schafe bezw. Ziegen ist im Küstengebiet eine geradezu ungeheure.

Ich will absehen von einem Transport von im ganzen 160 Rindern, Pferden, Eseln aus dem hochgelegenen Adamaua im Hinterlande, von denen 33 Rinder, 4 Pferde, 6 Esel als eventuell resistenter (immun gewordener) Rest in jämmerlichem Zustande die Küste am 14. Februar 1903 erreichten, und die gleich nach ihrer Ankunft von mir untersucht wurden. Unter wiederholt untersuchten 23 Buckelrindern dieses Transports fanden sich nur 2 infiziert durch spärliche Tse-tse-Parasiten. Dieselben kamen mit 3 anderen Buckelrindern Mitte Mai nach Duala. Die Tse-tse-Parasiten schwanden aus dem peripheren Blute allmählich bei gleichzeitiger Arseniktherapie. Im Juli und August starben 4 Buckelrinder plötzlich an akuter neuer Infektion durch *Trypanosoma vivax*. Von 5 weiteren Buckelochsen, die zum Teil aus Lagos in Ober-Guinea stammten, wurden 2 im gesunden Zustande geschlachtet, 1 alter Stier blieb gesund, wahrscheinlich immun, 1 starb im August an akuter, 1 im Dezember an chronischer Infektion durch *Trypanosoma vivax*. Die Piroplasmose betraf hauptsächlich die Esel. Die schreckliche Dezimierung des Viehtransportes war in diesem Falle außer durch die Krankheiten auch bedingt durch sinnloses Treiben durch den Urwald und Mangel an Futter.

Um der Fleischnot in Duala abzuhelfen, ließ ich Anfang August 1903 in Verbindung mit dem Bezirksamtmann aus St. Paul de Loanda, Portugiesisch-Westafrika, 5 erwachsene Rinder von dem großen romanischen Schlage kommen. Trypanosomeninfektion der Rinder in Loanda scheint den Gewährsleuten nach nicht vorzukommen. Die Tiere wurden sofort mit Ausnahme von einem sehr wilden, täglich untersucht, anfangs gänzlich negativ. Am 7. Tage waren noch sämtliche Tiere wohl und bei mikroskopischer Untersuchung ohne Parasiten, am 8. Tage war eins schwerkrank mit ungeheuren Mengen von *Trypanosoma vivax* im Blute und starb in der Nacht (Notschlachtung), am 9. dito zwei weitere. Bei allen dauerte die Krankheit nur 1, höchstens 2 Tage. Eine einzige Kuh zeigte sich auch in den folgenden Monaten nicht infiziert und bekam auch ein lebendes Junges. Dasselbe wurde dem Häuptling Manga Bell für seine neue Viehfenz, in der keine neuen Infektionen aufgetreten waren, übergeben, soll später auch gestorben sein. Der letzte Loandaochse wurde, noch bevor die mikroskopisch am 14. Tage festgestellte Infektion tödlich endete, geschlachtet.

Der Importversuch zeigte also ein sehr trauriges Resultat. Von 20 langbeinigen Haussaschafen, die der Bezirksamtmann aus Lagos zu Zuchtversuchen aus Versehen statt des von mir empfohlenen stämmigen Lagosschlages erhalten, gingen im Laufe weniger Monate alle ein durch Infektion mit *Trypanosoma vivax*.

Künstliche Infektionen mit *Trypanosoma vivax* wurden bei subkutaner Impfung, meist unter prinzipieller Verwendung von nur stark virulentem Blut von importierten Rindern oder akut erkrankten Schafen erzielt bezw. zu erzielen versucht, bei:

1) 8 grauen Ratten, nachdem sie an Rattentrypanosomen gelitten. Tod bei allen nach 8, 9 und 11 Tagen. Weiße Ratten und Meerschweinchen standen leider nicht zur Verfügung;

2) einer weißen Ratte von Dr. Schilling erhalten, negativ (zweite Ratte starb vorzeitig);

3) einem seit Jahren hier befindlichen deutschen Hunde, welcher leichte Parese der Hinterbeine infolge von Piroplasmose hatte. Nach 10 Tagen spärliche Trypanosomen, nach 3 Tagen verschwindend, bei wiederholten Untersuchungen stets negativ. Später angeblich Exitus unter plötzlichen heftigen Krämpfen (Piroplasmose?). Einheimische Hunde waren leider für Impfzwecke nicht zu haben, da die Duala wegen Hundesteuer fast alle Hunde getötet haben;

4) 2 Gänsen und 3 Enten, Resultat negativ. Schilling übertrug Tse-tse-Parasiten auf Gänse mit Erfolg;

5) 6 einheimischen Hühnern, 3 jungen, 3 alten, negativ. Voges fand Hühner für Mal de Caderas empfänglich. Die Versuche mit Geflügel wären daher zu wiederholen, da die überimpften *Trypanosoma vivax* von einem chronisch erkrankten Schafe stammten;

6) 2 Truthühnern, jüngeren, negativ (cfr. ad 5);

7) einer gesunden einheimischen Katze, geimpft 8. August 1903 mit dem sehr virulenten Blut einer Loandakuh (cfr. oben). Impfung noch 2mal in 3 Wochen wiederholt mit virulentem *Trypanosoma vivax*-Blut. Nach 2-monatlicher Beobachtung stets negativ. Die durch Tse-tse-Parasiten infizierte Katze starb nach 30 Tagen;

8) 2 einheimischen Schweinen, 1 jüngerem und 1 älterem, letzteres negativ, bei ersterem leichte Infektion nach 7 Tagen, nur 2 Tage dauernd;

9) 4 von den 6 kleinen Haussaeseln, stammend aus dem erwähnten Viehtransport, 14. Februar 1903 an der Küste angelangt, sehr abgemagert, aber später in etwas besserem Ernährungszustande. Die Esel hatten die Anstrengungen des Transportes aus dem Hinterlande am besten überstanden. Unter ihnen angeblich nur 25 Proz. Verluste, genaue Zahlen nicht zu erhalten. 9. April 1904 nach Duala. Bei 1 Esel erst dort vorübergehend sehr spärliche Tse-tse-Infektion im Blute. Sämtliche 6 Esel Piroplasmose zeigend, 2 ziemlich reichlich; nie die typischen Doppelbirnformen des *Pirosoma bigeminum*, Parasiten mehr semmel-, ei-, ring- oder stäbchenförmig, größte Diameter 2 μ, die kleinsten als feinste, stark lichtbrechende Pünktchen im roten Blutkörper, äußerst beweglich 1). Charakteristisch war starke Vermehrung der eosinophilen Zellen. Chinin 14 Tage täglich 2 g intravenös ohne Resultat. 15. Mai 1903 Impfung von 4 bis dahin trypanosomenfrei befundenen Eseln mit *Trypanosoma vivax* von chronisch krankem Schaf. Infektion spärlich und selten. Dauer der Infektion bis zum Tode 52, 168, 245, 290 Tage. (Bei einem schon früher, 4. Januar 1903, mit *Trypanosoma vivax* geimpften Esel aus Adamaua betrug die Infektionsdauer 63 Tage.)

Während der Infektion der Esel erneute 14-tägige Chininkur, täglich 2 g intramuskulär, ohne Resultat. Exitus durch allmählich zunehmende Entkräftung (Piroplasmawirkung?), niemals Oedeme. 2 nicht mit *Trypanosoma vivax* geimpfte Esel, deren Piroplasmose zurückging, stets ohne Trypanosomen. Gegenüber den Rindern haben also die Esel eine sehr erhebliche Resistenz bewiesen gegen die natürliche und künstliche Infektion (cfr. auch die lange Krankheitsdauer). Im Gegensatz dazu berichten Bruce und Schilling von äußerst akutem Verlauf der Tse-tse-Krankheit beim Esel. In Schillings 5 Fällen, „Ueber die Tse-tse-Krankheit“, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XXVI. Heft 3, werden als Krankheitsdauer 10, 12, 18, 14, 12 Tage angegeben. (Nach Koch waren die Massai-Esel immun gegen Tse-tse.)

Verlauf der *Trypanosoma vivax*-Infektion.

Dieser kann sowohl bei Rindern als auch bei Schafen und Ziegen ein enorm akuter sein, wie wir bei den importierten Loandaochsen und auch den Buckelochsen und bei dem einheimischen Gebirgsvieh gesehen. Ein ähnlich rapider Verlauf dürfte bei den übrigen

---

1) Anm. Mehrfach kam 2-, seltener 3-, 4—5-fache Infektion eines roten Blutkörpers durch Piroplasmen von oft ungleicher Größe zur Beobachtung (Diplococcus-Formen). Die größeren Parasiten lebhaft amöboid beweglich. Die ziemlich plumpen Stäbchenformen mit abgerundeten Ecken konnten auch lokomotorische Beweglichkeit zeigen, indem sie sich um ihre Längsachse drehten. Die kleinsten Formen zogen in irregulären Bahnen durch das ganze rote Blutkörperchen. Die Piroplasmen der Rinder, Schafe und Ziegen ganz ähnlich den oben erwähnten Formen. Nur schienen sie nicht ganz die Größe der ersichtlich sehr pathogenen Eselpiroplasmen zu erreichen. Cfr. Dtsche med. Wochenschrift. 1903. No. 15 u. 16. Die kleinsten Formen schienen im gefärbten Präparat fast nur aus Chromatin zu bestehen. Cfr. Dschunkowsky u. Luhs, J., Die Piroplasmosen der Rinder. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1904. p. 486. Fig. 3 der Abbildungen.) Nur ein Fall von schwererer, chronischer Rindermalaria (Piroplasmose) kam bei einem kleinen Ochsen aus Joh. Albrechts-Höhe 21. Januar 1903 zur Beobachtung. Notschlachtung.

Soweit ich entnehmen kann, glaube ich zum ersten Male aufmerksam gemacht zu haben auf:

1) die allgemeine Infektion der Haustiere durch Piroplasmen in Westafrika;

2) die vorzugsweise Infektion der jungen Tiere, welche dadurch später immun (resistent) werden gegen die im allgemeinen gutartige Erkrankung;

3) den Unterschied der westafrikanischen Rinderpiroplasmose gegenüber dem echten Texasfieber infolge Mangels der dem echten Texasfieber eigentümlichen Birnformen der Parasiten und Nicht- bezw. seltenen Auftretens von Hämoglobinurie (l. c.). R. Koch fand bekanntlich in Südafrika auch Unterschiede zwischen seinem Küstenfieber der Rinder und dem echten Texasfieber.

Trypanosomeninfektionen zu den Ausnahmen gehören[1]). Der Verlauf kann aber auch ein sehr chronischer werden und sich auf Monate bis zu 1 Jahr und eventuell darüber ausdehnen. In letzterem Falle kann es scheinbar bei Schafen und Ziegen zur Heilung kommen, indem, wenigstens bei mikroskopischer Untersuchung der äußerlich sehr oft völlig gesund erscheinenden Tiere, schließlich keine Parasiten mehr nachweisbar sind. Es kann aber auch zu erneutem, mehr oder weniger akutem Auftreten der Infektion beim Zutritt äußerer Schädlichkeiten, wie Durchnässung, Darmkatarrh etc., kommen. Auf diese Weise können wiederholt Rezidive, unterbrochen durch längere Perioden scheinbaren Wohlseins, auftreten. Auch hier kann es schließlich zur Genesung im klinischen Sinne kommen, oder aber die äußerlich gesund erscheinenden Tiere werden eines Morgens tot im Stalle gefunden. Ich hatte mehrfach Gelegenheit, in solchen Fällen zuweilen enorme Mengen von Trypanosomen bei der Sektion zu finden. In anderen Fällen stand die geringe Zahl im Herzblut, ja auch im Knochenmark in auffallendem Widerspruch zur Schnelligkeit des Todes. Es konnten aber auch bei den zur Zeit der ersten Untersuchung gesund erscheinenden und auch bleibenden Schafen und Ziegen große Mengen Parasiten im Blute auftreten bei gleichzeitiger Temperatursteigerung, um nach wenigen Tagen zu verschwinden. Die Infektion war dann von Anfang an eine leichte. Bei Rindern habe ich ähnliches bis jetzt noch nicht gesehen. Bei ihnen scheint die Neuinfektion immer nur akut einzusetzen, um entweder tödlich zu verlaufen oder chronisch. Im letzteren Falle kann es nach scheinbarer Heilung nach einem oder mehreren Rezidiven zum Exitus kommen. Fälle von sicherer Heilung habe ich jedenfalls bis jetzt bei Rindern noch nicht gesehen. Das eventuelle Verschwinden der Parasiten aus der Zirkulation erfolgte nie ganz plötzlich, sondern meist im Verlaufe von einigen Tagen. Die sehr ausgedehnten Fieberkurven der zum Teil viele Monate lang beobachteten Tiere können hier aus äußeren Gründen nicht gegeben werden. Es bestand bei den infizierten Tieren ein ganz unregelmäßiges Fieber, unterbrochen durch tagelange Remissionen. Auch hier zeigte sich, daß *Trypanosoma vivax* unter erneuten Fiebersteigerungen im Blute auftrat. In den ganz akuten Fällen, die blitzähnlich in ein bis zwei Tagen verliefen, traten bei Schafen und Ziegen häufig tonisch klonische Zuckungen auf, bei Rindern nur ausnahmsweise. In den ganz akuten Fällen trat oft sehr schneller, völliger Appetitverlust auf. Etwaige erhebliche Darmstörungen traten gar nicht bei dem rapiden Verlaufe in Erscheinung. In zwei akuten Fällen bei Rindern bemerkte ich leichte Albuminurie. In chronischen Fällen konnte die Freßlust, wie das auch bei der Tse-tse-Krankheit beobachtet ist, ungestört sein. Bei den Rindern wie auch bei den künstlich infizierten Eseln war das Fell struppig bezw. rauh. Die Haussahirten kannten dies Symptom wohl. In akuten Fällen lagen die Rinder, am Tage vorher noch ganz wohl, am Boden, einen schwerkranken Eindruck machend, Augen trübe, glasig, leichte Conjunctivitis. Aus dem Maule oft etwas glasiger Schleim. Puls und Atmung beschleunigt. Vor dem Exitus oft terminale Temperaturerniedrigung. Oedeme und Petechien der Haut auch in chronischen Fällen bisher nicht gesehen, im Gegensatz zur Naganakrankheit.

---

1) Cfr. Sander, L., Bericht über eine im Auftrage des Kaiserl. Gouvernements von Ostafrika unternommene Reise von Tanga nach Moshi, um das Vorkommen der Tse-tse-Fliege festzustellen. (Beiträge z. Kolonialpolitik u. Kolonialwirtschaft. Jahrg. V.) S. beobachtete in ganz akuten Fällen auch nur 1—4-tägigen Verlauf.

In allen Fällen war mehr oder weniger Anämie zu bemerken, in den akuten ganz kolossale, und zwar sank der Hämoglobingehalt schneller als die Zahl der roten Blutzellen; oft sah das Blut direkt wie hellrotes Wasser aus. Die Zahl der roten Blutkörper konnte sinken bis auf 2130000, Hg bis auf 22 Proz. (Fleischl). Basophile Körnung wurde mehrfach gesehen.

Pustulöse Ekzeme kamen nur einmal zur Beobachtung bei einem chronisch tse-tsekranken Pferde.

Von weiteren Resultaten sei, kurz resumierend bez. *Tryp. vivax* noch erwähnt:

1) Daß die Infektion oft nicht hinderte an der Austragung eines lebenden Jungen; bei 2 Rindern, 1 Ziege, 4 Schafen gesehen; Verwerfen wie bei Blutharnen relativ selten;

2) daß im Fruchtwasser eines infizierten Rindes und im Herzblut der Frucht keine Parasiten gefunden wurden, dito nicht bei 3 Schafen, daß also die Infektion nicht vererbt zu werden scheint;

3) daß die Nachkommen infizierter Muttertiere nicht immun sind, weder gegen natürliche noch künstliche Infektion, wie das in 6 Fällen, bei 4 Schafen, 1 Ziege, 1 Rind zu verfolgen war. Cfr. dagegen den Bericht über die Jagdhündinnen der Barotseneger in Südafrika, die, selber an der Infektion eingehend, vorher immune Junge gebären sollen;

4) daß die Inkubationszeit bei natürlicher Infektion und subkutaner Impfung annähernd dieselbe zu sein schien, 5—8 Tage. Bei Impfen großer Blutmengen Inkubation scheinbar durchschnittlich 1 Tag kürzer;

5) daß Tiere mit heller Haut in derselben Zahl infiziert schienen wie dunkle.

Pathologisch anatomischer Befund wird an der Hand der mitgenommenen Präparate noch des näheren bearbeitet. Daher erübrigt sich hier Wiedergabe der Protokolle. In den akuten Fällen kam es nie zu Milz- und Lebertumor. Auffallend wenig Parasiten in den Ausstrichen der inneren Organe, auch der Milz, mehr im Knochenmark. Seröse Ergüsse gering, meist nur im Pericard. In dem Nierenkelch meist deutlich gelblich sulzige Massen, ebenso auf dem Pericard. Zuweilen, besonders bei Schafen, ziemlich festhaftende, flockige, streifige, fibrinöse Auflagerungen auf Leber und Pericard. Därme meist anämisch.

Differentialdiagnose zwischen *Trypanosoma vivax* und *Trypanosoma Brucei*.

Aus dem Vorhergehenden ergibt sich Manches, welches ein von der echten Tse-tse-Krankheit etwas abweichendes Verhalten erkennen läßt:

1) hinsichtlich Gestalt des *Trypanosoma vivax*;

2) größerer Beweglichkeit desselben;

3) größerer Virulenz;

4) Schwierigkeit einer sexualen Differenzierung im Gegensatz zu *Tryp. Brucei*;

5) Art der natürlich infizierbaren Tiere, indem scheinbar nur Rinder, Schafe, Ziegen von den Haustieren betroffen werden.

Trotzdem würden die angegebenen Momente nicht hinreichen, die *Trypanosoma vivax*-Infektion von der Tse-tse-Krankheit zu trennen, wenn nicht auch noch folgende Beobachtungen für eine Trennung sprächen.

Ich bekam auf mein Ersuchen aus Togo am 30. August 1903, also zur Zeit der erwähnten Trypanosomen-Epidemie in Duala 2 Togoschafe und 2 Togoziegen, welche mit dem Tse-tse-Parasiten in Togo künstlich geimpft waren. Die Tiere zeigten bei wiederholten Untersuchungen die mir schon wohlbekannten Tse-tse-Parasiten nur zeitweise und in einer äußerst spärlichen Zahl. Die Tiere kamen in elendem Zustande an, erholten sich aber und waren nachher sämtlich recht munter. Schließlich verschwanden mit Ausnahme eines Schafes (Togobock No. II) innerhalb 8 Tagen die Trypanosomen aus dem peripheren Blute gänzlich, soweit man nach wiederholter mikroskopischer Untersuchung beurteilen konnte. Bei den 2 Ziegen und dem scheinbar immun gewordenen Schafe (Togobock No. I) erfolgte am 10. September neue Impfung mit 5 ccm Impfeinheiten (cfr. unten) von tse-tseparasitenhaltigem Blut, stammend von Schaflamm, welches von einer Buckelkuh mit Tse-tse abgeimpft war. Alle 3 Tiere reagierten nach 6—7 Tagen durch eine leichte T.-Steigerung. Aber nur bei einem (Togobock I) ließen sich vorübergehend wieder sehr spärliche Tse-tse-Parasiten feststellen. Sie waren also gegen die Wirkung der Tse-tse-Parasiten immun geworden.

Verimpfung von Blut einer dieser Ziegen erfolgte auf zwei graue Ratten. Leider entliefen dieselben, und stand damals kein weiteres Impfmaterial zur Verfügung. Die 2 Togoziegen und das eine Togoschaf (Togobock I), die scheinbar immun geworden gegen Tse-tse, wurden der kleinen Herde des Bez.-Amtes überwiesen, um dort besser Gelegenheit zur natürlichen Infektion durch *Trypanosoma vivax* zu bekommen.

Dort erkrankte der Togoschaf-Bock No. I an *Trypanosoma vivax* und starb nach 43, dito die beiden Togoziegen nach 60 bezw. 109 Tagen nach der Ankunft. Togobock No. II blieb in dem Tierstall des Hospitals und verlor allmählich die Tse-tse-Parasiten aus dem peripheren Blute. Künstliche Infektion desselben mit ca. zwei Impfeinheiten von sehr virulentem, *Trypanosoma vivax*-haltigem Blut eines einheimischen, in 1 Tage eingehenden Dualarindes vom Aboflusse. Danach leichte Infektion des Togobock No. II durch *Trypanosoma vivax*. Erneute Impfung mit virulentem *Trypanosoma vivax* resultatlos. An Bord mitgenommen nach Deutschland am 17. April 1904. Dritte Impfung dito ohne Resultat. 9 Tage nach dritter Impfung des Togobocks No. II Verimpfung seines Blutes auf weiße Ratte ohne Resultat. Bock No. II also scheinbar gegen Tse-tse-Parasiten und *Trypanosoma vivax* immum geworden.

Der Unterschied im Blut desselben Tieres zwischen dem neuauftretenden, ungeheuer beweglichen *Trypanosoma vivax* und dem viel trägeren, anfangs beobachteten Tse-tse-Parasiten in demselben Tiere, welches die Tse-tse-Krankheit so gut überstanden hatte, war ein äußerst charakteristischer. Man kann höchstens einwerfen, diese Togotiere waren in Togo künstlich geimpft, infolge des eintretenden Immunisierungsprozesses die Beweglichkeit der Parasiten daher geringer geworden, so daß der Unterschied zwischen den weniger beweglich gewordenen früheren Tse-tse-Trypanosomen und den neuen undeutlicher wurde. Indes konnte man bei Tieren derselben Rasse bisher nicht von Unterschieden in der Virulenz zwischen natürlich und künstlich überimpften Trypanosomen sprechen. Ein zweiter Versuch ist folgender:

2 abgemagerte Buckelochsen, welche ich aus Kribi von dem schon erwähnten Viehtransport aus dem Innern am 20. Mai 1903 in Duala zur Untersuchung erhalten hatte, zeigten, wie ebenfalls schon erwähnt, eine natürliche Tse-tse-Infektion, die allmählich immer geringer wurde. Der Ernährungszustand der Tiere nahm zu. Ich bemerke gleichzeitig, daß bei diesen beiden die spätere kurz zu besprechende Arseniktherapie

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

zur Anwendung gelangte. Auch diese beiden Tiere erkrankten gleichzeitig mit den Loandaochsen 9. August 1903, also während einer damals grassierenden Epidemie, nachdem die Arsenikkur schon ausgesetzt war, und erlagen der neuen Epidemie, mit den so charakteristischen, enorm beweglichen Parasiten innerhalb weniger Tage. Versuche, wie bei den Togoschafen, den eventuell stattgehabten Eintritt der Immunität gegen die Tsetse-Infektion zu prüfen durch neue Injektionen tse-tseparasitenhaltigen Blutes wurden bei ihnen nicht gemacht, da bei der Vieharmut in Duala die Tiere als Schlachttiere dienen sollten. Man könnte hier einwerfen, daß das Aussetzen der Arseniktherapie in diesem Falle ein neues Aufflackern der nur latent gebliebenen Tse-tse-Infektion bedingthätte. Indes, selbst bei der akutesten, spontanen, primären Tse-tse-Infektion, die ich gesehen, bei einem deutschen Terrier in Togo, der innerhalb eines Tages einging, waren die Trypanosomen nicht entfernt so lokomotorisch beweglich wie in diesem Falle das *Trypanosoma vivax*. Selbstverständlich sind trotzdem weitere Versuche nötig.

Am 17. August 1903 starb auch eine bis dahin scheinbar ganz gesunde, einheimische Kuh eines Negers, die schon seit Monaten in Duala war, an akut in 1 Tage tödlich verlaufender Infektion durch *Trypanosoma vivax*, am 21. August 1903 dito in 1 Tage eine erst kürzlich angetriebene, im besten Ernährungszustande befindliche Kuh des Bezirksamtes Duala.

Um, wie auch gegenüber den Tse-tse-Parasiten, *Trypanosoma vivax* gegen den Surraparasiten durch Immunisierungsversuche abzugrenzen, wurden außer einem mit Piroplasmose infizierten Lamme 5 Schafe, durch *Trypanosoma vivax* infiziert (darunter Togobock No. II), nach Deutschland mitgenommen. Leider starben die Tiere infolge mangelnder Ernährung in Hamburg, ehe die Schwierigkeiten betreffs Einfuhr beseitigt waren (cfr. später). Es läßt sich also bis jetzt nicht mit Sicherheit sagen, daß das *Trypanosoma vivax* nicht der Surraparasit ist. Ich lege nicht den geringsten Wert darauf, einen neuen Parasiten gefunden zu haben. Nur das glaube ich behaupten zu dürfen, daß der vorläufig von mir *Trypanosoma vivax* genannte Parasit sich bei Summierung aller erwähnten Momente unterscheiden läßt von dem Tse-tse-Parasiten. Wenn er wirklich, entgegen meiner Annahme, keine besondere Art darstellt, so repräsentiert er doch mindestens eine Varietät mit bereits erheblich konstant gewordenen Eigenschaften.

Versuche über die agglutinierende und parasiticide Wirkung des Serums von Tieren, welche an *Trypanosoma Brucei* bezw. *vivax* litten oder gelitten hatten, sind noch zu vervollständigen[1]).

Uebertragungsmodus des *Trypanosoma vivax*.

Zur Untersuchung über diesen Punkt eignete sich vorzüglich die sandige Landzunge Suellaba, auf der das schöne Küstensanatorium Kameruns sich befindet. Suellaba ist durch ein weites Seebecken von dem übrigen Lande getrennt und steht mit der übrigen Küste nur durch einen schmalen, völlig unbewohnten Waldgürtel in Verbindung.

---

[1]) Die wichtigen Versuche Mc Neals und Novys über künstliche Kultivierung der Trypanosomen auf Blutserum-Agar-Agar gelangten erst nach Fertigstellung der Arbeiten zu meiner Kenntnis: „On the cultivation of Trypanosoma Lewisi.“ (Contributation to medical research, dedicated to Victor Clarence Vaughan. Michigan Univ. 1903. June.)

Nach Suellaba war vor meiner Ankunft Vieh (Schafe und Ziegen) hingeschafft wurden, das zweifellos nach den Mitteilungen Trypanosomen gehabt hatte und zu über 50 Proz. eingegangen war. Dort geborenes Vieh war auch spontan erkrankt. Bei dem in dem benachbarten Urwald befindlichen Wilde waren Trypanosomen bisher nicht gefunden worden, wenigstens nicht bei einem dort geschossenen untersuchten wilden Büffel *Bos brachyceros*, 7 Zwergantilopen *Cephalophus melanorheus* Gray, 5 grauen Meerkatzen *Cercocebus collaris* Gray. Ein alter, später getöteter wilder Büffel bildete einen ganz sporadischen Befund, wie sorgfältige Erhebungen ergaben, ebenso 2 vor meiner Ankunft getötete Leoparden. Elefanten treten ebenfalls nur sporadisch in der Nähe eines gut 2 Stunden entfernten Sumpfes auf. Ein altes Flußpferd, *Hippopotamus*, das früher mehrfach Visiten in der Nähe des Sanatoriums machte, wurde seit über $^3/_4$ Jahr nicht mehr gesehen. Der Kreislauf der Infektion mußte sich also voraussichtlich in erster Linie zwischen den dort vorhandenen Haustieren des Sanatoriums und den vorhandenen stechenden Insekten abspielen. Bemerkt sei noch, daß die farbigen Arbeiter daselbst bei mehreren Untersuchungen sich als durchaus gesund erwiesen.

Als die Krankheit übertragende Tiere hätten in Frage kommen können:

1) *Anopheles*, in Suellaba aber nicht vorhanden.

2) *Culices*, spärlich, Species in Suellaba noch nicht sämtlich festgestellt.

In dem nahen Duala kommen nach Bestimmung meiner Sammlungen durch Dr. Grünberg in Betracht: a) *Culex fatigans* Nieden, b) *Cul. dissimilis* Theobald, c) *Cul. masculus* Theobald, d) *Mansonia africana* Theobald, e) *Eretmapodites quinque costatus* Theobald.

3) *Stegomyia fasciata*, erst einmal gesehen, möglicherweise eventuell bei dem häufigen Bootsverkehr dorthin nur gelegentlich verschleppt, also wohl als causa nocens auszuschließen. Nach brieflicher Mitteilung von Dr. Eysell (Cassel) scheinbar verschieden von *Stegomyia fasciata* aus Habana.

4) *Glossina*-Arten, dieselben wurden aber in Suellaba bisher nicht gefunden.

5) Sandflöhe, sehr häufig, unter den Säugetieren aber bisher von mir nur bei Katzen in den Ohren gefunden, aber wohl auszuschließen als Ueberträger der Trypanosomen, da Sandflöhe auch vorkommen in Gegenden, wo kein *Trypanosoma*.

6) Zecken, gefunden *Haemophysalis parmata* n. sp., in Togo scheinbar noch nicht gefunden, ferner *Rhipicephalus annulatus* (Say) und *Rhipicephalus Ziemanni* n. sp. von Prof. Neumann (Toulouse) bestimmt. *Ixodidae* finden sich auch im Gebirge, wo keine Trypanosomen vorkommen.

7) Läuse, wie z. B. der Schafharling, *Trichodectes sphaerocephalus* Nietzsch, in der Küstengegend häufiger. In Suellaba erkrankten aber auch Schafe, die wegen einer infektiösen Hufkrankheit täglich mit Lysol gebürstet wurden.

8) *Stomoxys*-Arten, gesammelt in Duala, Barombi, Buea, noch nicht bestimmt. Ueber das eventuelle Vorkommen von Tibuliden, Mycetophiliden, Chironomiden, ferner von Raubfliegen, wie z. B. von der Gattung *Asilus, Dasypogon* und *Laphria*, ist noch nichts sicheres bekannt (Dr. Grünberg).

9) Tabaniden, in Suellaba ziemlich häufig, mittelgroße und große *Tabanus*-Arten, die noch nicht bestimmt sind, sog. Mangofliegen, die äußerst schmerzhafte Stiche auch den Menschen versetzen. Unter ihnen wurde bereits bestimmt *Chrysops dimidiatus* v. d. Wulp, den ich auch in dem berüchtigten Mungothal besonders bei Bombe gefunden. Tabaniden erscheinen besonders verdächtig als Ueberträger der Trypanosomeninfektion.

Ich machte nun in Suellaba den Versuch, die Herde dort völlig von Trypanosomen dadurch zu befreien, daß ich systematisch durch immer wiederholte Blutuntersuchungen die sämtlichen erkrankten Tiere schlachten bezw. nach Duala fortschaffen ließ, im ganzen 9, und sie durch Lämmer, deren Blut in Duala von Geburt an untersucht war, ersetzte. (Cfr. Kamerun. Gesundheitsverhältnisse. Ber. d. Verf. Arbeiten aus d. kais. Gesundh.-Amt. Bd. XXI. 1904. Heft. 3.) Ein ähnlicher Versuch ist mir aus der Literatur noch nicht bekannt geworden. In der Tat war auch in Suellaba Monate hindurch, wie in

Duala im April, Mai, Juni, Juli 1903, keine neue Infektion zu bemerken, auch nicht im August 1903; da zeigten sich plötzlich am 23. Oktober 1903 bei neueren Untersuchungen von einer Herde von zuletzt untersuchten 23 Köpfen 9 Tiere durch *Trypanosoma vivax* infiziert, 4 jüngere und 5 ältere Tiere, die bis dahin als noch nicht infiziert befunden waren. Es handelte sich also sicher um neue Infektionen und eine Art Epidemie wie in Duala. Wo hatten nun die betreffenden stechenden Insekten die Infektionskeime herbekommen? Es wäre ja möglich gewesen, daß trotz aller Sorgfalt in dem Blute der früher mit negativem Erfolge und dort noch nicht durch neue ersetzten Tiere doch Trypanosomen der Beobachtung entgangen waren; dann aber konnte die Menge der Trypanosomen im peripheren Blute jener Tiere nur eine außerordentlich geringe gewesen sein. Es hätten also schon die Stiche recht vieler Insekten dazu gehört, aus dem Blute jener Tiere die Infektion rein mechanisch durch den Stechrüssel auf andere zu übertragen.

In der Tat waren Juli und August 1903 in Suellaba in der Regenzeit, damals etwas abnormal verlaufend, Tabaniden scheinbar in etwas vermehrter Zahl zu entdecken.

Wir wissen nun, daß im Blute chronisch trypanosomiasiskranker Tiere sich die Trypanosomen über 1 Jahr erhalten können.

Wir wissen ferner durch Bruce, daß wenigstens *Glossina morsitans* im stande ist, noch nach 48 Stunden, nachdem sie Blut eines tse-tse-kranken Tieres gesogen, die Tse-tse-Parasiten durch den Stechrüssel auf andere bis dahin gesunde Tiere zu übertragen.

Für das nach längerer Pause explosionsartige Auftreten der kleinen Epidemie in Suellaba (gleichzeitig in Duala [Buckelrinder, Loandarinder etc.]) gab es nun 2 Erklärungen. Entweder die jungen stechenden Insekten (Fliegen) hatten trypanosomeninfizierte Tiere gestochen, und deren infektiöses Blut rein mechanisch auf andere bis dahin gesunde Tiere übertragen. Wir sahen aber, daß ich mit Sorgfalt aus dem früher erwähnten Grunde alle infiziert gewesenen Tiere entfernt und ersetzt hatte durch zweifellos gesunde Lämmer (vom Reg.-Hospital Duala) und daß die nicht gewechselten Tiere bei mehrfachen mikroskopischen Untersuchungen sich völlig frei von Parasiten gezeigt hatten.

Diese Erklärung hatte also wenig für sich. Aber gesetzt auch, in dem Blute eines oder zweier Tiere wären trotzdem zeitweise früher übersehene, wenige Trypanosomen gewesen, so hätte die Infektion bei rein mechanischer Uebertragung durch die Stechrüssel doch immer nur allmählich von Tier zu Tier übertragen werden können. Wir würden dann nicht von einem explosiven, epidemischen Charakter der Infektion sprechen können, die bei mehreren Individuen gleichzeitig die Krankheit ausbrechen läßt, sondern die Infektion würde so lange ununterbrochen gedauert haben, als die betreffenden stechenden Insekten und infizierte und noch nicht infizierte Schafe und Ziegen vorhanden waren.

Ein zweiter Grund gegen die alleinige Gültigkeit der rein mechanischen Uebertragung der Trypanosomen von Säugetier zu Säugetier durch die Stechrüssel der Insekten ist folgender. Wir wissen und ich glaube, das aus Kamerun durchaus bezüglich des *Trypanosoma vivax* bestätigen zu können, daß, je mehr Trypanosomen künstlich übertragen werden, desto schneller und schwerer die Infektion verläuft, wenigstens im allgemeinen. Man wird sich vorstellen, daß bei spärlicher Uebertragung die Schutzstoffe des Organismus leichter den Kampf gegen das Virus aufnehmen können. (Die Neuinfektionen im August und September 1903 verliefen aber, wie wir in Duala sahen, recht schwer).

Nun können zweifellos Stechrüssel, Pharynx und Hypopharynx der Stechfliege, wenn von einem trypanosomenreichen Blute gesogen ist, genügend Trypanosomen für eine neue Infektion aufnehmen.

Unsere in Frage kommenden Tiere in Suellaba, deren Infektion eventuell doch übersehen war, hatten aber, wenn überhaupt, sicherlich nur äußerst wenige Trypanosomen in zirkulierendem Blute. Ich kann mir kaum denken, daß eine stechende Fliege mit dem von letzteren Tieren aufgenommenen, so äußerst wenig Parasiten haltenden Blut durch Hilfe des Stechrüssels mehr als allerhöchstens ein einziges anderes Tier infizieren könnte.

Alles drängt vielmehr zwingend zu dem Schlusse, daß die Infektionskeime nicht als einziger Trypanosome die Proboscis des stechenden Insektes wieder verließen, sondern sich stark schon im Insektenkörper in einem gewissen Zeitraum vermehrten, wie auch die Malariaparasiten sich in Anopheles stark durch die dann erst einsetzende geschlechtliche Teilung (Sporogonie) vermehren. Die geradezu ungeheure Menge der Trypanosomen in den von mir erwähnten, blitzähnlich schnell verlaufenden Fällen läßt ebenso darauf schließen, daß die Infektionskeime voraussichtlich nicht von einem einzigen Keime herstammen, sondern daß mit dem einzigen Stich des betreffenden infizierten Insektes gleich eine große Menge Infektionskeime inokuliert wurden.

Die lange Zeitdauer zwischen den letzten positiven Beobachtungen im Blute der dort infiziert gewesenen und von dort entfernten Tiere und dem neuen Auftreten der Infektion läßt aber vor allem auch an eine Wanderung der eventuell sich umwandelnden und in dem betreffenden Insekt vermehrenden Trypanosomen auf die Nachkommenschaft der betreffenden Insekten schließen. Wir kennen bereits auf Grund der klassischen Untersuchungen von Theobald Smith das Ueberwandern der Erreger des Texasfiebers (*Pirosoma bigeminum*) auf die Nachkommen der infizierten Zecken. Koch konnte das in Afrika, Verf. in Venezuela einwandsfrei experimentell nachprüfen und bestätigen [1]). In den betreffenden Zeckeneiern selbst konnte ich bisher aber keine Parasiten entdecken. Leider erhielt ich erst in der allerletzten Zeit meines Aufenthaltes trotz fleißiger Bestrebungen in Duala mehrfach Mengen von *Chrysops* und *Stomoxys* durch Neger zur Untersuchung, und untersuchte ich nun mehrfach deren Eierstöcke.

Mit äußerster Reserve sei folgender Befund mitgeteilt, den ich gelegentlich eines Aufenthaltes in Suellaba am 23. Oktober 1903, zur selben Zeit machte, als die interessanten flagellatenartigen Gebilde bei der Zwergantilope gefunden wurden. Es wurden mir mehrere Stechfliegen auf mein Ersuchen von den Negern gefangen, angeblich und auch augenscheinlich frisch gefangen. Nach nachträglichen Vergleichen mit Exemplaren von *Chrysops dimidiatus*, die Dr. Grünberg mir als solche bezeichnete, glaube ich die betreffenden Insekten als *Chrysops dimidiatus* ansprechen zu können. Bereits bei dreien hatte ich Magen, Eierstöcke und Malpighische Gefäße durchmustert, ohne Resultat. Da fand ich im Zupfpräparate der Eierstöcke des vierten Exemplars, dem physiologische Kochsalzlösung zugesetzt war, außerhalb der Eier eine beträchtliche Anzahl kleinster flagellatenartiger Organismen, spindelförmig, deutlich konturiert, ähnlich den schon im Blut der Zwergantilope gefundenen Flagellaten, nur viel kleiner und zierlicher als jene, ca. $^1/_4$—$^1/_5$ Durchmesser eines menschlichen roten Blutkörpers lang; die größte Breite betrug durchschnittlich etwa $^1/_8$—$^1/_{10}$ der Länge. Die Beweglichkeit war verschieden. Einige waren mehr oder weniger bewegungslos, andere zeigten die lebhafte, wackelnde, rotierende Beweglichkeit der Antilopenflagellaten, wobei auch ihr Körperplasma eine ähnliche gewisse Starre zeigte wie die Antilopenflagellaten, also sehr verschieden von der Schmiegsamkeit des Tse-tse-Trypanosoma. Uebrigens ist auch schon das Plasma von *Trypanosoma vivax* nicht so schlangengleich verschieblich wie das der Tse-tse-Parasiten. Das sehr zierliche Flagellum der kleinen Flagellaten betrug ca. $^1/_4$ der Körperlänge. Bei den unbeweglichen Formen war ein Flagellum im ungefärbten Präparate nicht mit Sicherheit zu entdecken. Im Innern des Plasmas waren wenige, meist 1—3, feinste, lichtbrechende Körnchen zu entdecken. Die Bewegung erfolgte mit dem Geißelende scheinbar stets voran. Leider unterbrach eins der Haustiere, das von einem Neger zur Untersuchung neben dem Mikroskoptisch gehalten wurde, viel zu vorzeitig die auch sonst unter schwierigen Verhältnissen stattfindende Untersuchung, indem es Mikroskop, Tisch etc. in den Sand stieß. Ob die kleinen Flagellaten aus dem Eierstock des *Chrysops* in Beziehung stehen zu den größeren, ähnlichen Flagellaten der Antilope, oder gar, was recht unwahrscheinlich, zu dem *Trypanosoma vivax* der Schafe etc., ist nicht zu sagen. Jedenfalls teilte ich die Beobachtung betreffend die Flagellaten der Antilope und des *Chrysops* gleich meinen Freunde Oberstabsarzt Heuermann in Duala mit. Da spätere Untersuchungen bei 22 *Chrysops* in Duala bis jetzt noch kein ähnliches Resultat gaben, müssen Versuche mit selbstgezüchteten *Chrysops*, die trypanosomenhaltiges Blut sogen, baldigst wieder aufgenommen werden. Vor allem müßten auch die die abgelegten Eier umhüllenden Massen auf verdächtige Parasiten untersucht werden.

---

[1]) Ziemann, Ueber Lomadera, eine Art äußerst verbreiteten Texasfiebers in Venezuela. (D. med. Wochenschr. 1902. No. 20. p. 385.)

Zu bemerken ist noch, daß die Schafe und Ziegen in Suellaba auch Piroplasmose, oder richtiger gesagt, Tiermalaria zeigen konnten. Von Piroplasmen kann man kaum sprechen, da die betreffenden Parasiten keine Birnformen zeigen. Es wären also auch noch die eventuellen Beziehungen der Eierstocksflagellaten des *Chrysops* mit den Erregern der Tiermalaria (l. c.) zu erörtern.

Therapeutisch kam bei den zwei durch Tse-tse infizierten Buckelochsen, wie schon erwähnt, Arsenik zur Anwendung, derart, daß begonnen wurde mit Injektion von Solutio Fowleri 1,0 täglich, steigend um 0,1 bis 2,0 täglich, und dann zurückgehend bis 1,0. Bei den Buckelochsen, welche eine scheinbar milde Tse-tse-Infektion hatten und während der Verabfolgung von Arsenik in dem Ernährungszustande zunahmen, konnte Arsenik das Neuauftreten von tödlichen Infektionen durch *Trypanosoma vivax* nicht hindern. Bei zwei chronisch an Tiermalaria (Piroplasmose) erkrankten Haussaeseln, die mit noch zwei anderen Eseln trotz Impfung mit *Trypanosoma vivax* nur eine sehr chronische Trypanosomeninfektion davontrugen, blieb Chinin bimuriat. täglich 2,0, 14 Tage hindurch intramuskulär, ohne Wirkung, sowohl auf die Tiermalariaparasiten (Piroplasmen) als auf die Trypanosomen. Von den Versuchen, durch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Malachitgrün und Trypanrot die Trypanosomen im Blute abzutöten, wußte ich noch nichts[1]).

Prophylaxe.

Schon Herr Geheimrat Koch hatte gezeigt, daß es im Prinzip gelang, Tse-tse-Trypanosomen durch Passagen durch andere Tierkörper in der Virulenz abzuschwächen, so daß die mit den abgeschwächten Trypanosomen geimpften Tiere immun erschienen gegen spätere Infektionen. Schilling hat diese Versuche in größerem Maßstabe wieder aufgenommen. Neuerdings verwirft Koch diesen Modus der Immunisierung, indem er nachwies, daß die geimpften Tiere trotz ihrer scheinbaren Immunität doch die Krankheitskeime in ihrem Körper behielten; es hieße also künstlich die Infektion durch die Verimpfung auf bis dahin gesunde Tiere immer weiter übertragen. Aeußerst wertvoll erscheint die Angabe Herrn Geh.-Rat Kochs, daß ganz im Gegensatz zu seiner früheren Annahme bei scheinbar immun gewordenen Tieren sich die Krankheitskeime im infektionsfähigen Zustande noch weiter erhalten. Verf. hat in Bezug auf die Malaria schon von Anfang an betont, daß, im Gegensatz zu den Befunden in Neu-Guinea, bei den Eingeborenen Westafrikas keine Immunität in dem Sinne aufträte, daß mit zunehmendem Alter die Malariaparasiten mit Sicherheit gänzlich aus dem Körper verschwänden. Daher wären also auch die Kinder im Alter von 1—6 Jahren durchaus nicht allein die Träger der Infektion. Verf. hat sich daher so ausgedrückt, daß die Neger mit zunehmenden Jahren eine zunehmende Resistenz gegen die Malaria gewinnen. Da ich die obenerwähnte Immunisierungsmethode seinerzeit von Koch und Schilling weiter verfolgt wußte, auch abwarten wollte, ob die Tierpassagen bei den eigenartigen und schwierigen Verhältnissen Westafrikas, speziell Kameruns, sich würden durchführen lassen, sah ich von der Verfolgung jener Methode ab, und ging von anderen Erwägungen bei den Immunisierungsversuchen aus[2]).

Geheimrat Koch empfiehlt, um die Trypanosomen zn vernichten, ein Vorgehen in der Weise, daß alle infektiösen Tiere aufgesucht werden, welche entweder durch Vernichten oder Abschlachten sofort unschädlich gemacht werden sollten, oder zu isolieren wären, so daß sie andere Tiere nicht mehr infizieren können. Er beruft sich auf die Inseln Java und Mauritius. Auf Mauritius, wo man die eingeschleppte Surra nicht zeitig genug erkannt hätte, seien innerhalb zweier Jahre fast sämtliche Pferde und Maultiere und der größte Teil der Rinder vernichtet worden. Auf Java dagegen hätte man durch Vernichtung bezw. Isolierung der infizierten Tiere die Seuche zum Stehen gebracht.

Ich bemerke dazu, daß 1) Java und Mauritius Inseln sind, durch das Meer abgeschlossen, wo sich erforderliche Maßnahmen dieser Art radikal durchführen ließen im Gegensatz zu Kamerun, wo die ganze mächtige Kolonie durch Urwälder, bewohnt von wenigen Wilden, mit den benachbarten Kolonieen, in denen ähnliche Verhältnisse herrschen,

---

[1]) Wendelstadt, H., Ueber die Wirkung von Malachitgrün und anderen verschiedenartigen Stoffen gegen Naganatrypanosomen bei weißen Ratten. (Deutsch. med. Wochenschr. 1904. No. 47. p. 1711.)

[2]) Theoretisch müßten auch Mc Neals und Novys Versuche mit künstlich gezüchteten Trypanosomen zur Züchtung schwach virulenter Stämme führen können.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

im Zusammenhange steht; 2) daß Java und Mauritius alte wohlentwickelte Kolonieen sind, deren Bevölkerung auf einer unendlich viel höheren und disziplinierteren Stufe stehen, wie die Buschneger Westafrikas, daß in jedem Dorfe eine wohlgeordnete Verwaltung besteht, und beide Inseln von einem Netz von besten Wegen durchschnitten werden.

Herr Geh.-Rat Koch bringt ferner das Schwinden der Tse-tse mit dem Schwinden der früheren Massen des großen Wildes in Südafrika zusammen, welches der mordenden Büchse des Boeren erlag. Wir haben in den riesigen Urwäldern Westafrikas, wie ganz allgemein bekannt, relativ äußerst wenig Wild. Auch der Büffel, Flußpferd und Elefant wird langsam mehr und mehr dahinschwinden. Trotzdem aber wird in den undurchdringlichen Wäldern sich noch auf Hunderte von Jahren hinaus eine Anzahl von kleinerem Wild aller Art halten, welches möglicherweise ebenfalls der Träger der Trypanosomeninfektionen ist (cfr. meine Beobachtungen beim Schimpansen). Es ist ganz unmöglich, dieses Wild auszurotten. Wir haben aber ferner gesehen, daß ein enorm hoher Prozentsatz des ganzen einheimischen Viehstandes durch Trypanosomen infiziert ist. Wenn 50 Proz., wie in Mundame und Jabassi, sich stellenweise schon bei einfacher mikroskopischer Untersuchung infiziert zeigten, wenn ferner auch scheinbar gesundes Vieh bei Uebertragung von Blut desselben in gesunde Versuchstiere sich infiziert zeigt, werden die gegen die Trypanosomeninfektion zu ergreifenden Maßnahmen de facto sich auf alle Tiere erstrecken müssen. Mit anderen Worten, wir müßten das ganze Vieh der Küste aufessen, vernichten oder isolieren. Das aber würde sofort zu Aufständen der Eingeborenen an allen Orten führen, wo mühsam eine Beruhigung eingetreten ist, da es unmöglich ist, dem Neger den Grund eines solchen Vorgehens klar zu machen. Es sind noch andere Gründe, die gegen ein solches Vorgehen sprechen. Selbst wenn, was ausgeschlossen ist, die europäische Bevölkerung sich selbst das Opfer auferlegte, bis zur Schaffung eines neuen Viehstandes kein frisches Fleisch zu essen, und wenn die Neger durch Gewalt in ihrem Widerstande gebändigt würden, wäre ein Erfolg nur dann zu hoffen, wenn die benachbarten Kolonieen in derselben radikalen Weise vorgingen. Das aber ist bei der schonenden, meist vorbildlichen Eingeborenenpolitik Englands gegen die Eingeborenen seiner Kolonieen und bei den Verhältnissen in der Kolonie Batta unmöglich, selbst wenn die enormen Schwierigkeiten, die die Urwälder und die Erschwerung der Wegeverhältnisse durch Ströme und Gebirge darbieten, nicht vorhanden wären. Man muß es, wie Verf. auf seiner Expedition selbst, erlebt haben, wie ein einziges tropisches Gewitter in wenigen Stunden eine ganze Landschaft unpassierbar machen kann.

Die Forderung, nach erfolgter Blutuntersuchung jedes infizierte Tier unschädlich zu machen, ist, da auch die Säugetiere des Urwaldes unschädlich zu machen wären, nicht durchführbar. Ich habe bereits 1902—1904, vor, während und nach der Expedition alles Vieh, dessen nur irgend habhaft zu werden war, untersucht. Die unglaubliche Tölpelhaftigkeit der Neger, die nicht mit dem Vieh umzugehen wissen, die Wildheit der Rinder ließen nicht eine Untersuchung sämtlicher Rinder zu (cfr. Zahlenangaben im Expeditionsbericht l. c.). An manchen Stellen flohen aus den bei meiner Expedition berührten Dörfern die Neger mit ihrem Vieh in die Urwälder, sobald sie von meinen Blutuntersuchungen Kenntnis bekamen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

dieses trotz durch Dolmetscher etc. allgemein verbreiteter Zusicherung meiner friedlichsten Absichten.

Herrn Geheimrat Kochs Vorschlag also, der für alte wohlentwickelte Kolonieen, speziell auch Inseln, seine Berechtigung hat, würde in Kamerun nicht verwendbar sein.

Wenn, wie wir oben als möglich angenommen, die Trypanosomen auf die Nachkommenschaft der stechenden Insekten übergehen sollten, wäre auch der Kampf gegen die betreffenden stechenden Insekten zu eröffnen. Wir wissen über die Entwickelungsbedingungen derselben noch wenig, soweit *Stomoxys* und Tabaniden in Frage kommen. Da die letzteren, die mir am meisten verdächtig erschienen, ihre Eier in Wasser ablegen, würde die Bodenassanierung von bestem Resultat sein müssen, und hoffe ich, über diesen Punkt speziell in Duala nach Durchführung weiterer Assanierung berichten zu können. Gleichzeitig würde damit auch gegen die Moskitos, falls diese bei Verbreitung der Trypanosomen beteiligt sein sollten, vorgegangen werden. Käme *Stomoxys* in Frage, welche sich im Dung entwickelt, so würde für peinlichste Beseitigung des Dunges in der Nähe der Tierställe zu sorgen sein und durch helle luftige Ställe den Fliegen der Aufenthalt möglichst unbehaglich gemacht werden müssen. In Suellaba ist bereits in diesem Sinne vorgegangen.

Unter diesen Umständen halte ich es für das praktischste, wenn, wie es mir in Kamerun geglückt ist, eine der Küste möglichst nahe, leicht zugängliche, zur Viehzucht geeignete Gegend erkundet wird, in der durch systematische Blutuntersuchung der Haustiere, speziell auch des Klein- und Jungviehes die Trypanosomenkrankheit ausgeschlossen werden kann. Dort muß man rationelle Viehzucht beginnen, und das Vieh durch geübte Treiber in einer Jahreszeit, wo die stechenden Insekten am wenigsten schwärmen, auf möglichst kurzem Wege zu den Orten des Konsums bringen. Während des Marsches ist für ausgiebigen mechanischen Schutz gegen stechende Insekten zu sorgen. Längs des Weges sind in geeigneten Zwischenständen Weideplätze mit Wasser zu errichten und mit Unterständen für das Vieh, in denen während der Anwesenheit von Vieh Feuer zum Vertreiben der Insekten unterhalten wird.

Ich entdeckte eine solche wunderbar fruchtbare, noch dazu gänzlich malariafreie Gegend in den Hochländern vor und am Manenguba, von wo das Vieh bequem in $3^1/_2$—4 Tagen zur Küste gelangen kann. Intelligenten Landwirten eröffnen sich dort später gute Aussichten. Hat Kamerun erst eine Bahn, welche die Hochländer des Innern mit der Küste verbindet, so kann sehr wohl aus dem viehreichen Hinterlande sogar ein Export nach anderen Teilen der Küste stattfinden, falls man das Vieh während des Bahntransports durch Drahtgaze gegen Insektenstiche schützt.

Selbstverständlich muß man trotzdem nach einer wirksamen, selbst afrikanischen Verhältnissen angepaßten Methode suchen. Dahin geht ja das Streben aller beteiligten Nationen. Ich will hier, absehend von einigen nicht ermutigenden Versuchen passiver Immunisierung (D. Kolonialbl. 1904. Juli) mit Serum von Tieren, die die Infektion überstanden hatten, das Prinzip einer aktiven Immunisierungsmethode erwähnen, die, wenn sie von mir auch nur bei Schafen und Ziegen wegen Mangels an Kälbern erprobt wurde, wegen ihrer leichten Ausführbarkeit weiter verfolgt werden muß. Ich benutzte die Beobachtung, daß in Kamerun sowohl bei den Ratten wie auch bei den eingeborenen Haustieren nur die jüngeren Tiere hauptsächlich und schwerer erkrankten, während die älteren im Verhältnis zu den jüngeren seltener und leichtere Infektionen aufweisen. Die älteren Tiere gewannen also, ohne immer die Krankheitskeime gänzlich bezw. mit Sicherheit zu verlieren, durch das Ueberstehen früherer Infektionen eine vermehrte Resistenz [1]).

Da nun, wie wir sahen, das ganze Vieh in einem erheblichen Prozentsatze, zum Teil bis zu 50 Proz., mehr oder weniger gleich mikroskopisch nachweisbare oder latente Trypanosomeninfektion aufwies und daher mindestens hochverdächtig blieb, konnte man von einer künstlichen Verbreitung der Trypanosomen durch künstliche Impfung kaum noch sprechen in einer Gegend, wo fast mit Sicherheit jedes Tier über kurz oder lang auf natürlichem Wege von Trypanosomen infiziert wird. Genau so, wie es dort fast allen Menschen mit den Malariaparasiten ergeht. Warum also nicht das Werk der Natur durch die mäßigende Hand des Menschen dirigieren?

Im Anschluß an meine Immunisierungsversuche gegen das „Blutharnen der Rinder“ in Oldenburg [2]), wo ich die jungen Milchkälber absichtlich mit dem Blute chronisch kranker, älterer Tiere infizierte, um eine leichte künstliche Infektion zu erzielen und damit Schutz gegen eine schwerere spätere natürliche Infektion, impfte ich in Kamerun junge Sauglämmer der Schafe und Ziegen mit dem Blute chronisch trypanosomenkranker Tiere, deren Trypanosomen augenscheinlich relativ geringe Virulenz zeigten. Die Versuche fanden also nicht statt bei erwachsenen Rindern etc., deren etwaige frühere Infektionen zu irreführenden Resultaten führen konnten, sondern bei bis dahin gesunden Lämmern 8—10 Tage nach der Geburt, deren künstliche Infektion später unter ständiger mikroskopischer Kontrolle war.

Um mit einigermaßen konstanten Verhältnissen rechnen zu können hinsichtlich der Trypanosomenmenge in dem subkutan zu überimpfenden Blute, wählte ich möglichst Blut, welches im Deckglaspräparat im Gesichtsfelde 1—2 Trypanosomen aufwies. 1 Tropfen dieses Blutes wählte ich als Einheit und verdünnte bei stärkerem Trypanosomenbefunde das Blut in entsprechendem Grade im Verhältnis zur Zahl der Trypanosomen.

Da hier nur das Prinzip der Impfung mitgeteilt werden soll, sei kurz erwähnt, daß wie bei den erwachsenen, so auch bei den jungen Tieren die Impfung anfangs zu widersprechenden Resultaten führte, indem große Verschiedenheiten in der Empfänglichkeit für die künstliche Infektion sich ebenso wie bei der natürlichen Infektion bemerkbar machten. Bald starben die Tiere infolge der Impfung, bald ertrugen sie die Infektion gut. Bald verschwanden die Parasiten später scheinbar gänzlich aus dem Blute, und reagierten die Tiere dann auch nicht auf erneute Infektion durch stark virulente Trypanosomen, bald blieben die Parasiten mit Unterbrechungen im peripheren Blute sichtbar, wenn auch nur in geringen Mengen, und ertrugen die Tiere ohne Reaktion, eventuell abgesehen von leichten T.-Steigerungen, erneute Impfungen mit stark virulenten Trypanosomen. Wir sahen bereits, daß der eine nach Deutschland mitgenommene Togo-Schafbock sowohl gegen Tse-tse als gegen *Tr. vivax* scheinbar immunisiert worden war. Impfung seines Blutes auf eine weiße Ratte war, wie wir sahen, negativ. Schließlich stellte sich heraus, daß einmalige Injektionen größerer Mengen virulenten Blutes durchschnittlich schlechter vertragen wurden als die mehrfach wiederholten Injektionen kleiner Mengen für die Versuche ausgewählten, schwach virulenten Blutes in vorsichtig gesteigerter Dosis. Zuletzt wurde derart vorgegangen, daß

---

[1]) Wenn Musgrave auf den Philippinen ältere und jüngere Tiere in gleichem Maße infiziert sah, kann das daran liegen, daß die Seuche erst vor kurzem dort eingeschleppt war.

[2]) Z., l. c. (D. med. Wochenschr. 1903. No. 16.)

am 8. Tage nach der Geburt des Schaflammes 10
„ 18. „ „ „ „ „ „ 20
„ 28. „ „ „ „ „ „ 40
Impfeinheiten von Blut chronisch infizierter, scheinbar sonst gesunder Schafe injiziert wurden.

Unter den 5 nach Deutschland mitgenommenen, mit Trypanosomen infizierten Schafen waren 3 nach dieser Methode behandelt; 2 derselben zeigten vor und während der Reise nur sehr spärlich und tageweise Trypanosomen, ziemlich träge im Verhältnis zur sonstigen Beweglichkeit des *Tr. vivax* und reagierten auf eine neue Impfung mit dem Blute eines nicht vorbehandelten, ziemlich stark durch *Tr. vivax* infizierten, abgemagerten Schafes nicht.

Impfung mit Blut dieser 2 Schafe auf ein deutsches Schaf an Bord des Dampfers infizierte dieses zwar. Indes, trotz zeitweise ziemlich reichen Auftretens von *Trypanosoma vivax* und der T.-Steigerung schien das deutsche Schaf nicht im geringsten krank zu sein. Die Parasiten des letzteren wurden auch dem Schiffsarzte demonstriert.

Das dritte der 3 vorbehandelten Schafe war, wie der Togo-Schafbock, immun geworden, reagierte auch nicht auf neue Impfung mit *Trypanos. vivax*-Blut und schien sein Blut auch nicht infektiös mehr für die weiße Ratte.

Bei sämtlichen subkutan geimpften Schafen kam es zu Drüsenschwellungen in Vorder- und Hinterschenkelbeuge.

Leider machte das Eingehen der Tiere in Hamburg durch Nachlässigkeit des Wärters nach meiner Abreise die Fortsetzung der Versuche unmöglich. Gewiß, die Versuche waren aus Mangel an Mitteln und Material nur sehr spärlich und müssen daher wiederholt werden. Vor allem müßte auch bei Rindern in Duala experimentiert werden können, und würde ich empfehlen, eventuell die erwähnte Methode mit einer äußerst vorsichtigen Arsenikkur zu kombinieren.

Wenn es dahin kommen sollte, daß bei den nach dieser Methode immunisierten oder anders ausgedrückt, resistent gemachten Tieren die Zahl der Parasiten im peripheren Blute immer geringer wird bezw. ganz verschwindet, wird auch für die stechenden Insekten die Möglichkeit immer geringer, die Krankheitskeime auf andere Tiere zu übertragen. Mit anderen Worten, theoretisch bestände die Möglichkeit, die Krankheit allmählich auszurotten, auch wenn zwei verschiedene Trypanosomeninfektionen in einem Lande sich finden.

Wir sehen, welche Fülle von Aufgaben unserer noch harrt. Insbesondere wird auch noch auf das schwierige Kapitel der Tiermalaria (Piroplasmose) der Haustiere zurückzukommen sein[1], sowie auf die eventuelle Piroplasmose des Menschen (cfr. vorläufige Mitteilung in meinem Bericht „Kamerun, Gesundheitsverhältnisse im Jahre 1902/03.“ Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXI. p. 581).

---

[1] Z., l. c. (D. med. Wochenschr. 1903. No. 16) u. Ziemann, Ueber die Kieferkrankheit der Pferde und Maultiere Kameruns. (Arch. f. wissenschaftliche u. praktische Tierheilkunde. 1905. Heft 1.)

Auch die ungemein interessante Spirochäteninfektion eines kleinen Kalbes aus Groß-Batanga, Südkamerun, 1. Januar 1903, welches neben Tiermalariaparasiten (Piroplasmen) eine schnell vorübergehende Infektion durch Spirochäten von der durchschnittlich 5-fachen Länge des Diameter eines roten Blutkörperchens aufwies, wird weiter untersucht werden müssen. In der betreffenden Herde herrschte auch Infektion durch *Trypanosoma vivax*.

Von dem Befunde wurde **Laveran** baldigst Kenntnis gegeben, der mir eine fast gleichzeitig gemachte, ihm übermittelte Beobachtung **Theilers** aus Südafrika mitteilte[1]). Die Spirochäten hatten in meinem Falle im Gegensatz zu denen **Theilers** ziemlich alle die gleiche Länge. Dieselben zeigten lebhafte schlängelnde, auch lokomotorische Beweglichkeit.

Das Kalb wurde mit dem Dampfer nach Duala mitgenommen. Nach der zweitägigen Seefahrt waren die Spirochäten für immer aus dem Blute verschwunden.

Impfung vom Blute des Kalbes auf ein ebenfalls Tiermalariaparasiten (Piroplasmen) aufweisendes Schaflamm, da ein Kalb nicht zur Verfügung stand. Impfung negativ.

Es ist zu erwarten, daß die genialen Untersuchungen Schaudinns[2])[3]), des unbestrittenen Führers der modernen Protozoenforschung, für alle diese Untersuchungen in den Tropen reichste Förderung bringen werden.

Nachdruck verboten.

Ueber Nematoden an der Hypophysis cerebri von Felis domestica.

Von cand. med. **Victor Widakowich,**

Assistenten am embryolog. Institute der Universität in Wien.

Mit 8 Figuren.

In dem 1904 erschienenen Bande der „Arbeiten aus dem neurologischen Institute der Wiener Universität“ beschreibt V. **Bunzl** in einem „Zur Parasitologie des Gehirnes“ betitelten Aufsatze einen trichinenartigen Parasiten im Hirne des Maulwurfes und gibt im Anschlusse daran einen Ueberblick über die in diesem Organe bereits beobachteten Parasiten. Diese erste Zusammenstellung der im Gehirn des Menschen und der Tiere vorkommenden Parasiten nennt die Hypophysis nicht als von Parasiten befallenen Hirnteil. Wegen der Seltenheit von Angaben über Parasiten im Hirne von Tieren und als Ergänzung zur Arbeit von V. **Bunzl** sei folgender merkwürdige Befund an der Hypophysis der Katze kurz besprochen.

Bei der Durchsicht einer von mir im Institute des Herrn Prof. v. **Apáthy** verfertigten Schnittserie durch die Hypophysis cerebri einer ausgewachsenen Katze zeigte es sich, daß das die Hypophysis umgebende, sie mit der Duralauskleidung der Sella turica verbindende Gewebe an mehreren Stellen gewuchert und stark pigmentiert war und zahlreiche Querschnitte durch Wurmleiber barg (bis 18 Querschnitte pro Schnitt).

---

1) **Laveran**, Sur la spirillose des bovidés. [Separatabdr.]

2) **Schaudinn**, Studien über krankheitserregende Protozoen (Plasmodium vivax). (Arbeiten aus d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XVIII. 1902. Heft 3.)

3) **Schaudinn**, Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosomen und Spirochaete. (Arbeiten aus d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XX. 1904.)

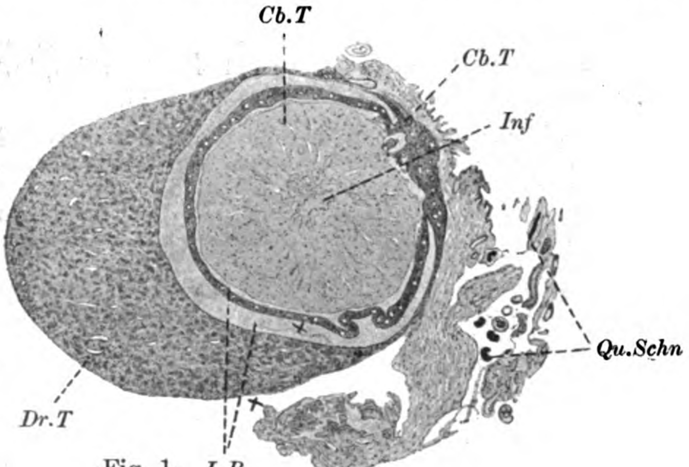


Fig. 1.

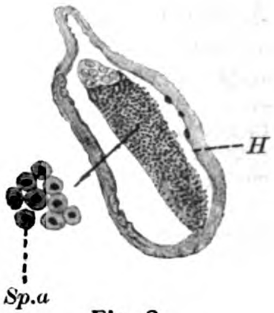


Fig. 2.

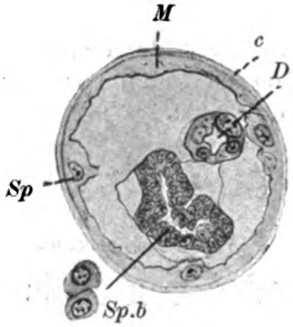


Fig. 3.

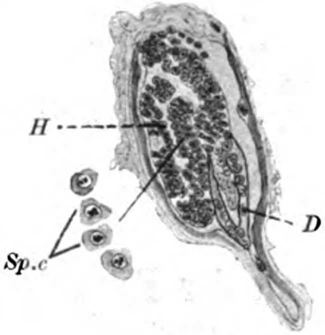


Fig. 4.

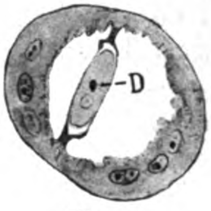


Fig. 5.

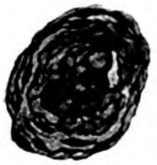


Fig. 6.

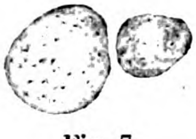


Fig. 7.

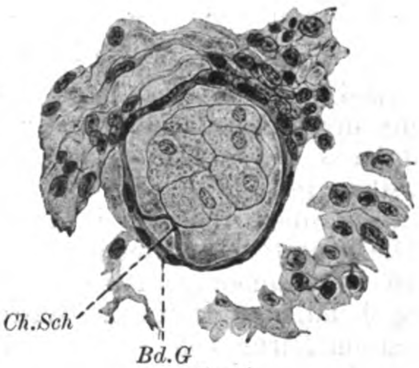


Fig. 8.

(Sämtliche Figuren sind mit Hilfe der Oberhäuserschen Camera gezeichnet.)

Fig. 1 gibt ein Uebersichtsbild von der Hypophysis und zeigt die Lage der Querschnitte durch die Wurmleiber. *Dr.T* drüsiger, *G.T* Gefäß-, *Cb.T* cerebraler Teil der Hypophysis. *Inf* Infundibulum, *L.R* Lymphraum, *Qu.Schn* Querschnitt durch die Parasiten. Vergr. ca. 1 : 16.

Fig. 2—5. Querschnitt durch die Parasiten. *H* Hoden, *Sp. a, b, c* Spermatozoen auf verschiedenen Entwickelungsstufen, *a* am wenigsten, *c* am weitesten in der Entwickelung vorgeschritten. Vergr. ca. 1 : 186 für die Querschnitte durch die Parasiten, ca. 1 : 1100 für die Spermatozoen.

Fig. 6 ist ein Bild von einem Querschnitte durch ein von Bindegewebe eingekapseltes Ei, dessen Inhalt zerfallen ist. Vergr. ca. 1 : 280.

Fig. 7 zeigt zwei Querschnitte durch Eier, deren Einkapselung weit vorgeschritten ist. Vom Ei selbst scheint nichts mehr vorhanden zu sein, das Bindegewebe, das die Kapsel lieferte und den Eiinhalt ersetzte, ist eine eigentümliche Degeneration eingegangen. Vergr. ca. 1 : 280.

Fig. 8. Querschnitt durch ein in Furchung befindliches Ei, um dessen Chitinschale sich Bindegewebszellen legen. *Ch.Sch* Chitinschale, *Bd.G* Bindegewebe. Vergr. ca. 1 : 400.

Fig. 1 gibt eine Uebersicht dieser Verhältnisse. Man sieht links den drüsigen „thyreoiden“ Teil der Hypophysis, der nach rechts in den Gefäßteil übergeht, welcher seinerseits den cerebralen Teil der Hypophysis, der an der Stelle der Schnittführung noch vom Infundibulum durchbohrt ist, umgibt. Zwischen Drüsenteil und Gefäßteil einerseits, Gefäßteil und Hirnteil andererseits ist je ein Lymphraum. Im Bindegewebe sieht man eine Anzahl von Querschnitten durch die Parasiten teils vom Bindegewebe eingeschlossen, teils frei zwischen einzelnen Bindegewebszügen liegen. Die erste Frage, die sich aufwirft, ist wohl die nach dem Wege, den die Parasiten genommen haben, um an diesen scheinbar unzugänglichen Ort zu gelangen. Bei der Enge der hier vorhandenen Gefäße ist ein Weg via Blut- oder Lymphbahn nicht anzunehmen und der Weg von den Hirnkammern her durch das Infundibulum mit Durchbrechung der Hypophysis wahrscheinlicher. Die Durchsicht der Serienschnitte bestätigt nun letztere Annahme. An mehreren aufeinanderfolgenden Schnitten ist der nervöse Teil der Hypophysis so zerstört, daß bei Rekonstruktion ein cylindrischer Kanal zu stande kommt. Nach diesen Schnitten folgt eine Reihe unverletzter, auf diese eine Reihe, in der die Gefäßschicht und der drüsige Teil etwa in den in Fig. 1 mit × bezeichneten Stellen durchbrochen ist. Die Zerstörung der Gefäßschicht ist derart, daß einzelne mit der Hauptmasse derselben zusammenhängende Fetzen in den perforierten drüsigen Teil hineingezogen erscheinen. Interessant ist, daß diese mit der Hauptmasse im Zusammenhange gebliebenen Teile keinerlei Degeneration erkennen lassen, während der durchbohrte drüsige Teil von einem feinen Detritus erfüllt ist, der sich auch in den äußeren Lymphraum ergossen hat.

Offenbar sind die Schmarotzer vom Hirn in einen Ventrikel durchgebrochen, von wo sie in das Infundibulum gelangten. Von hier aus erfolgte die Durchbohrung des Hirnteiles der Hypophysis, worauf die Parasiten zwischen diesem und der Gefäßschicht ein Stück weiter wanderten, um dann nach Durchbrechung dieser und des drüsigen Teiles in das die Hypophysis umgebende Bindegewebe zu gelangen.

Leider war es nicht möglich, die Art der Parasiten zu bestimmen. Sicher ist, daß dieselben zu den Nematoden gehören. Cuticula, Muskelschlauch mit der typischen Muskulatur, Seitenfelder, ein mit zelligen Wandungen versehenes, muskelloses Darmrohr sind deutlich zu erkennen. Der Wurm ist getrenntgeschlechtlich. Fig. 2—5 zeigen unter anderem Querschnitte durch verschiedene Höhen des Hodens, in denen die Spermatozoen auf verschiedenen Entwickelungsstufen stehen (*Sp. a*, *b*, *c*). Außer den leicht kenntlichen Querschnitten durch die Nematodenleiber fanden sich in großer Zahl ca. 100 μ im Durchmesser zählende Querschnitte von wabigem Bau, die durch radial verlaufende Septen in Sektoren geteilt sind. In einer gewissen Zahl von Maschen liegt je ein kugeliger Körper von ca. 6 μ Durchmesser. Die Bedeutung dieser Gebilde war zunächst unklar. Bei der Durchsicht der Leuckartschen Arbeit[1]) über *Sphaerularia bombi* und *Allantonema gibbosum*, Würmer, bei denen eine Art Prolapsus uteri in der Art zu stande kommt, daß der vorgestülpte Uterus so zu wachsen beginnt, daß er schließlich den Wurm an Größe bedeutend übertrifft und nach Abstoßung seines Trägers gleichsam als selbständiges Wesen sich noch eine Zeitlang weiter ent-

---

1) Leuckart, R., Neue Beiträge zur Kenntnis des Baues und der Entwickelung der Nematoden. Leipzig 1887.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

wickelt, kam ich auf den Gedanken, daß es sich auch in diesem Falle um freie Uteri handeln könnte. Herr Prof. Hatschek, dem für die Durchsicht meiner Präparate herzlichst zu danken ich mir hier erlaube, hatte ebenfalls den Eindruck, freie Uteri vor sich zu haben. Die Rekonstruktion einer Anzahl von Querschnitten ergab nun den bemerkenswerten Befund, daß es sich tatsächlich um einen ringförmig prolabierten Uterus handelte, dessen Volumen das des übrigen Wurmkörpers übertraf. Leuckart berechnete, daß das Volumen des Uterus den übrigen Leib der *Sphaerularia* um das 16—20000-fache übertreffen kann. Bei unserem Parasiten betrug das Volumen des Uterus schätzungsweise das Doppelte des übrigen Tieres.

Außer diesen besprochenen Querschnitten, aus denen sich die Anwesenheit von mindestens einem männlichen und einem weiblichen Tiere beweisen ließ, fanden sich noch zahlreiche Durchschnitte von Gebilden, die in Fig. 6 und 7 abgebildet sind. Sie machten den Eindruck von kleinen, von Bindegewebe eingekapselten Fremdkörpern. Ihre Bedeutung wurde völlig klar, als sich ein wohlerhaltenes, in Furchung begriffenes Nematodenei fand, um dessen Chitinschale sich spärliche Bindegewebszellen legen. Fig. 8 zeigt das Ei, an dem die Furchung deutlich zu erkennen ist. Zur Zeit der Fixierung in Sublimatalkohol war also dieses Ei noch nicht abgestorben. Ein Bild von einem bereits abgestorbenen Ei, bei dem die Einkapselung weiter vorgeschritten ist, gibt Fig. 6. Hier sieht man, daß der Inhalt des Eies bereits zerfallen ist und die Kapsel eine relative Dicke erlangt hat. Fig. 7 zeigt ein vollkommen eingekapseltes Ei, dessen Kapsel eine Art hyaliner Degeneration eingegangen ist. Zu der bemerkenswerten Tatsache, daß im Gewebe eines Tieres, zumal an einem anscheinend so unzugänglichen Orte, Nematodeneier bis zur Furchung gelangen, konnte ich in der Literatur kein Analogon finden. Auf diesen Befund soll hier speziell hingewiesen werden. Es ist schwer, auf die Frage, wie diese Eier in das die Hypophysis umgebende Gewebe kamen, richtig zu antworten. Keinesfalls stammen sie aus den freiliegenden Uteri, da die in diesen enthaltenen unreifen Eier keinen größeren Durchmesser als 6 μ haben, das abgebildete Ei aber einen solchen von ca. 50 μ besitzt. Die eine Möglichkeit ist, daß Eier auf demselben Wege wie die Würmer, vielleicht ohne intimen Zusammenhang mit diesen, an die in Frage stehende Oertlichkeit gelangten, die andere, daß sich ein reifer, freier Uterus in einem Teile des lockeren Bindegewebes befand, der bei der Präparation verloren ging.

Bezüglich der Literatur über Parasiten im Gehirn verweise ich auf V. Bunzels Arbeit.

Nachdruck verboten.

Zur Spezifität der Antikörper.

Von Dr. **H. Lüdke**, Barmen.

(Fortsetzung.)

Zwei weitere Versuche, die ich in aller Kürze erwähnen will, wurden mit Staphylokokkenimmunserum gemacht. Lubowski und Steinberg gaben zuerst eine bisweilen auftretende Mitagglutination von anderen Bakterienarten als Staphylokokken an. Es gelang mir von 5 Tieren 2 Kaninchen nach monatelangem Immunisieren zu einer erheblichen Agglutinationsfähigkeit ihres Serums gegenüber zwei differenten Staphylokokkenstämmen und einer geringeren Agglutinationskraft des Bact. typhi, B. paratyphi A und B zu bringen. Jedoch war auch hier das Verhältnis in der Höhe des Agglutinationswertes ein außerordentlich ungleiches; die mitagglutinierten Bakterien wurden (B. typhi in Verdünnung 1 : 66, B. paratyphi A und B in Verdünnung 1 : 40) gegenüber Staphylococcus pyogenes aureus (in Verdünnung etwa 1 : 2000) in weitaus geringerem Grade als der zur Immunisierung verwandte Stamm agglutiniert. Die Absorptionsverhältnisse boten im wesentlichen kein von den bei B. proteus gemachten Angaben abweichendes Verhalten.

Wollen wir zum Schluß die Frage von der Spezifität der Bakterienagglutinine entscheiden, so müssen wir vornehmlich diese beiden Gesichtspunkte erwägen: Einmal, ist der Organismus resp. die Agglutinin sezernierenden Zellen im stande, die Reaktionskörper gründlich auszubilden und besitzt weiter der Mikroorganismus die Agglutinin verankernde, ihm nur spezifische Komponente.

Die Eigenschaft, spezifische Agglutinine zu produzieren, ist nicht direkt dem infizierenden Bakterium zu vindizieren; durch dasselbe wird nur der maximalste, adäquate Reiz auf bestimmte Zellkomplexe ausgeübt, der die Auslösung spezifischer Stoffe zur Folge hat.

Eine nur relativ spezifische, d. h. auf einzelne Bakterienarten wahllos beschränkte, qualitativ differenzierte Agglutininproduktion tritt bei einer Aenderung der normalen Zellsekretion auf; bei einer gesteigerten Zelltätigkeit, bei der Einwirkung von die Zellleistungen in bestimmter Weise anregenden Stoffwechselprodukten (Ikterus) tritt eine geringfügigere Agglutininbildung auf. Stoffwechselvorgänge beherrschen die Entwickelung und Ausbildung solcher Reaktionskörper, rufen unter veränderten Bedingungen Schwankungen, Steigerungen wie Abnahme hervor und sind auch bei der unter normalen physiologischen Verhältnissen entstehenden Agglutininsekretion wirksam.

Den adäquaten Reiz erhalten wir erst bei der Produktion der spezifischen Agglutinine durch einen infizierenden Mikroorganismus; absolute Spezifität tritt endlich auf den Angriff des jeweilig spezifischen Bakterium ein; denn eine erhöhte Agglutinationsfähigkeit wird auch durch nahestehende Arten mit verwandtem Rezeptorenapparat erreicht (Gruppenagglutination). Solche Agglutinationsformen bei infektiösen Erkrankungen können jedoch keineswegs in Konkurrenz mit der Gruber-Widalschen Reaktion bei Typhus abdominalis infolge des geringen Prozentsatzes der zu beobachtenden Fälle und des geringen Intensitätsgrades der Reaktion treten. Am Krankenbett des Typhuskranken bietet der Gruber-Widal, wenn für die Frühdiagnose positiv, mehr wie ein bloßes Symptom, in späteren Stadien der Krankheit ein höchst wertvolles Bestätigungssymptom. Seine Dignität besteht nicht in dem positiven Ausfall der Probe, vielmehr liegt in der Steigerung der Agglutinationsfähigkeit des wirksamen Blutserums die diagnostische Bedeutung dieser Reaktion.

Außer auf die Agglutinin bildenden Zellen kommt es auf die Ausbildung der spezifischen, Agglutinin verankernden Komponente im Bakterium selbst an. Hier kann eine Abschwächung (in Bouillonimmunserum gezüchtete oder ganz frisch aus dem infizierten Organismus entnommene Stämme) dieser spezifischen Eigenschaft bestehen. Weiterhin können entstandene Proagglutinoide im Serum eine größere Avidität zum Rezeptor ausüben. So kann der spezifische, für den äußeren Nachweis unsichtbare Bindungsprozeß, durch das Fehlen der fällenden Gruppe gehemmt werden. Jedoch konnte bisher dieser Bindungsprozeß nicht gänzlich aufgehoben werden.

Wir gelangen so von der praktischen Seite der Anwendung des Agglutinationsphänomens auf die wissenschaftlichen Untersuchungen über den Wert der Agglutination als einer spezifischen Reaktion und haben in einigen Versuchsreihen über natürliche wie Immunagglutinine folgende Resultate verzeichnet: In Normalseris sind mehrere Agglutinine anzutreffen. Eine völlige spezifische Absorption jedes einzelnen Agglutinins läßt sich schon infolge der schwierigen Versuchsmethodik bis jetzt nicht erreichen. Bei diesen natürlichen Agglutininen hat meist keins derselben eine vorherrschende Stellung; es kann demnach auch eine gegenseitige Vertretung der einzelnen Teilagglutinine stattfinden; nur wo in einzelnen Fällen ein Agglutinin stärker hervortritt, kann man ein stärkeres Sinken im Agglutinationswert nach elektiver Absorption dieses Agglutinintypus finden.

Bei Immunisierungen mit Proteus-Bacillen und Staphylokokken tritt, wie auch Lubowski und Steinberg nachwiesen, eine Mitagglutination anderer Bakterienarten auf (Bact. typhi, B. coli, B. dysenteriae), der niedrige Titre dieser Teilagglutinine aber beeinflußt in keiner Weise den Wert der spezifisch wirksamen Immunsera. Meist beruht das Auftreten solcher nebenher entstehenden Agglutinine lediglich auf einer Steigerung normal vorhandener Agglutinationsverhältnisse für einzelne Bakterien, eine Anschauung, die durch den tatsächlichen Nachweis solcher Normalagglutinine und die Schwankungen in ihrem Agglutinationstitre während der Immunisierung gestützt wird.

Bezüglich der allgemeinen Bewertung des Agglutinationsphänomens muß ich auf Grund meiner Untersuchungen die Ansicht aussprechen, daß wir in der Agglutination mit einer sekundären Qualität eines Bakterium zu rechnen haben, indem unter gewissen Bedingungen, die hauptsächlich in der Ausprägung der individuellen Eigenart, der Virulenz, der Resistenz des befallenen Organismus bestehen, mit einer Variabilität in der Ausbildung des Sekretionsprozesses der Agglutinine zu rechnen ist, so daß einmal eine sehr starke agglutinierende Wirkung, das andere Mal nur eine schwache, sehr selten gar keine von demselben Bakterium produziert wird. Das Agglutinin auslösende Prinzip kann meines Erachtens zu einer variablen, sekundären Eigenschaft des Bakterium werden.

Wie wir gewisse morphologische Modifikationen einer Art zu erzeugen im stande sind, gelingt es auch, Aenderungen in den biologischen Lebensäußerungen der Bakterien auf die Reaktion der befallenen Zellen hervorzubringen und so agglutinablere und mehr oder minder inagglutinable Stämme zu differenzieren. Unter diesen teils natürlichen, teils künstlich gesetzten Modifikationen erkennen wir jedoch immer das Grundgesetz der Spezifität, des spezifischen, einseitigen, konstanten Wirkungsvorganges.

Wir stellen endlich diese Leitsätze auf:

Der spezifische Charakter der Agglutinine kann am deutlichsten und reinsten in einem hochwertigen Immunserum erkannt werden, das für die Diagnostik des Infektionserregers die absoluteste Dignität besitzt.

Das Rekonvaleszentenserum ist, auch bei hohem Agglutinationstitre, nicht absolut zuverlässig für die Diagnostik des infizierenden Mikroorganismus; es bietet nur eine wahrscheinliche Sicherheit im Symptomenkomplex; unter den Symptomen des Abdominaltyphus nimmt die Agglutinationsreaktion jedoch den hervorragendsten Platz ein.

Die Gruber-Widalsche Reaktion hat somit bisher in keiner Weise eine Einbuße ihres Wertes erlitten.

Präzipitine. Schwieriger als die bisher behandelten Kapitel erwies sich die Bearbeitung und Beurteilung des Spezifitätsbegriffes bei den beiden zuletzt zu erwähnenden immunisatorisch erzeugten Reaktionskörpern, den Präzipitinen und Cytolysinen.

Bei beiden liegt die Schwierigkeit der Erkennung der Spezifität in der mannigfachen Affinität, die diese Antikörper zu den Zellen resp. den differenten Eiweißarten des behandelten Organismus zeigen.

Bei den Präzipitinen — ich will mich nur auf die künstlich erzeugten beziehen — müssen wir 2 Gruppen bei der Frage nach ihrem Spezifitätscharakter unterscheiden: Einmal die Spezifität in der Unterscheidung von Eiweißarten unterschiedlicher Tiere, andererseits die Spezifität der einzelnen, chemisch verschieden charakterisierten Eiweißkörper.

Was die Unterscheidung der Eiweißarten der verschiedensten Tiere anlangt, so steht nach den bisherigen Untersuchungen fest, daß wir in qualitativer und quantitativer Beziehung eine Spezifität der durch Injektion der Eiweißart eines Tieres erhaltenen Präzipitine für sämtliche Eiweißkörper derselben Tierart annehmen müssen. So ist den in forensischer Beziehung wichtigen Unterscheidungsmerkmalen von Blutarten, der Milch, des Fleisches, des Sperma etc. verschiedener Tierspecies durch die Spezifität der Präzipitinreaktion eine eingehende Ausarbeitung angediehen. Nuttall[1]) konnte allerdings auch hier geringfügige Differenzen nachweisen, indem er bei einer sehr großen Untersuchungsreihe verschiedener Tierarten Präzipitine fand, die auch auf die Eiweißkörper nicht desselben Tieres, sondern auch auf die verwandter Tiere einwirkten. So z. B. präzipitierte Menschenblutpräzipitin auch das Serum anthropoider Affen. Hier treten jedoch bedeutendere Unterschiede in der Wirkungsintensität zu Tage, so daß auf Grund dieser Befunde von einer Ableugnung der spezifischen Wirkung der Präzipitine nicht die Rede sein kann.

Mit größerer Schwierigkeit waren die Untersuchungen verbunden, die eine Spezifität der Eiweißarten desselben Tieres zum Nachweis

---

1) Nuttall, zitiert nach Uhlenhuth, Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. (Festschr. f. Rob. Koch. 1903.)

bringen wollten. Auch hier gelang es nach allerdings bis jetzt spärlicher vorliegenden Mitteilungen in einzelnen Fällen, dem Spezifitätscharakter solcher arteigener Eiweißkörper zur Anerkennung zu verhelfen.

Die Spezifität der Antikörperbildung ist gerade bei den Präzipitinen der am feinsten differenzierteste Vorgang, da wir mit den einzelnen Komponenten der Zellen zu rechnen haben, aber auch andererseits wieder am kompliziertesten, da in den verschiedensten Zellarten homologe Eiweißkörper existieren, die ihrerseits zur Absättigung der erzeugten Präzipitine führen und dadurch eine Nichtspezifität vortäuschen können. Je weiter sich eine Zellgruppe durch eine nur ihr eigene Ausbildung von den übrigen zum Verband des Organismus gehörenden Zellen entfernt, desto deutlicher wird die individuelle Ausbildung des Spezifitätscharakters der Reaktionsprodukte dieser Zellen ausgearbeitet sein.

So wird gerade bei den Präzipitinen die Ausbildung auch weniger spezifischer Reaktionsprodukte neben dem völlig spezifischen Hauptpräzipitin in Erscheinung treten müssen. Bei der Entstehung spezifischer Produkte im Serum durch abgeschlossene, einheitliche Zellen, die zum Zerfall kommen (Bakterien, Erythrocyten), wird die „Gruppenreaktion“ nicht so ausgesprochen sein wie bei den gelösten einzelnen Eiweißkörpern. In einem Eiweißmolekül haben wir eben auch verschiedene Substanzen, die, analog den bakteriellen Prozessen, ins Blut eines geeigneten Organismus ihnen entsprechende Gegengruppen sezernieren lassen, die einesteils streng spezifisch auf die zur Vorbehandlung dienende Eiweißart, andererseits auch eine Reihe von ähnlichen Nebenantikörpern entstehen lassen, die zur Erkenntnis der Spezifität des gewollten Präzipitins auszuscheiden sind.

Das Hauptmoment bei der Entstehung spezifischer Präzipitine muß jedenfalls, wie v. Dungern[1]) experimentell bewiesen hat, den präzipitinliefernden Zellen zukommen. Es ist den einmal nach Einführung einer bestimmten Eiweißart zur Mehrproduktion von typischen Rezeptoren angeregten Zellen eine bestimmte, spezifische Direktion erteilt worden, die sich vielleicht in Modifikationen der Protoplasmastruktur anatomisch ausdrücken könnte, und die bei einem neuen Reiz die spezifischen Präzipitine schneller ins Blut abstoßen läßt als bei Normaltieren. v. Dungern suchte nun nachzuweisen, ob die Eigenschaft, daß aktiv immunisierte Kaninchen eine vermehrte Bindungsfähigkeit gegenüber dem präzipitablen, zur Vorbehandlung dienenden Eiweißkörper zeigen, eine spezifische ist oder ob sich dieselbe auch auf andere Eiweißkörper erstreckt. In fast allen Fällen ergab sich hierbei, daß eine Beschleunigung der Antikörperbildung für den einen Eiweißkörper durch Vorbehandlung mit dem anderen, fremdartigen nicht eintrat, lediglich bei verwandten Eiweißarten trat zu Beginn eine verfrühte, für beide Eiweiße gemeinsame Präzipitation auf.

Wir müssen also eine Spezifität der Präzipitine der Eiweißkörper verschiedenen Tieren gegenüber annehmen und haben es mit einer „Artreaktion“ zu tun, bei der das Antiserum nur auf natürliche wie denaturierte Eiweiße derselben Art ohne jeglichen Unterschied einwirkt.

Die Methodik der Präzipitinuntersuchung war bislang noch nicht differenziert genug, um die verschiedenen Eiweißkörper ein und des-

---

1) v. Dungern, Spezifität der Antikörperbildung. (Festschr. f. Rob. Koch. 1903.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

selben Organismus genau unterscheiden zu können. Allerdings behaupteten Leblanc[1]) und Ide[2]) anfangs, für das Albumen und Globulin des Blutserums in der Präzipitation eine streng spezifische Reaktion gefunden zu haben; ihre Angaben wurden jedoch durch die nachfolgenden Untersuchungen von Obermeier und Pick[3]), Rostoski[4]), Umber[5]) etc. widerlegt. Erst in letzter Zeit wurde die Frage von den spezifischen Differenzen verschiedener Eiweißarten durch den Präzipitationsvorgang wieder mit glücklichem Erfolge aufgenommen. Schlossmann und Moro[6]), Hamburger[7]), Uhlenhuth[8]) vermochten Kaseïn und Albumin der Milch derselben Tierart deutlich zu differenzieren. Für die Linsensubstanz des Auges gab Uhlenhuth[9]) ein durchaus spezifisches Präzipitin an, das mit dem Blutserum derselben Tierspecies und anderen Eiweißlösungen keine Reaktion gab. Ascoli[10]) will mittels der Absorptionsmethode die einzelnen Eiweißfraktionen in gewissem Grade spezifisch nachweisen können. Kluck und Inada[11]) konnten in einer unter Rostoskis Leitung verfaßten Arbeit Eiklarlösungen von Eigelblösungen durch die Präzipitationsreaktion absolut scharf unterscheiden. Dabei trat jedoch nicht nur in der Eigelb- (resp. Eiklar-)lösung desselben Vogels eine deutliche Fällung auf, sondern auch in denen anderer untersuchten Tiere ohne bemerkenswerte quantitative Unterschiede.

Den bislang besten Beweis für die spezifische Natur der Präzipitine lieferte Weichardt[12]), indem er den Ehrlichschen Absorptionsversuch hier zur Anwendung brachte. Durch mehrfaches Zufügen von Affenserum zu einem an präzipitabler Substanz für Menschen- wie Affenblut reichen Kaninchenserum waren nur die für Menschenblutserum spezifischen Präzipitine nachzuweisen und umgekehrt. In gleicher Versuchsanordnung konnte Weichardt einen deutlichen Unterschied zwischen den Reaktionen mit 2 Leichenblutsorten erkennen. Kister und Weichardt[13]) konnten ebenso für Pferdeblutserum nach elektiver Absorption die heterologe Reaktion auf Menschenblutserum gänzlich ausschalten und so eine absolut spezifische Reaktion erzielen.

---

[1]) Leblanc, La cellule. T. I. 1901. No. 18.
[2]) Ide, Fortschr. d. Med. 1901. p. 234.
[3]) Obermeier und Pick, Wien. klin. Rundschau. 1902. No. 13.
[4]) Rostoski, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 18.
[5]) Umber, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 28.
[6]) Schlossmann und Moro, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 14.
[7]) Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 49.
[8]) Uhlenhuth, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 4.
[9]) Uhlenhuth, Festschr. f. Koch. 1903.
[10]) Ascoli, Nach Autorreferat im Biochem. Centralbl. 1903. No. 19.
[11]) Kluck und Inada, Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. Heft 3/4.
[12]) Weichardt, Hyg. Rundschau. 1903. No. 15.
[13]) Kister und Weichardt, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1902. No. 20.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber hämolytische und hämotrope Sera.

[Aus dem Institute für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

Von Dr. **F. Neufeld** und Dr. **H. Töpfer.**

Die vorliegenden Versuche über spezifische, gegen Blutkörperchen fremder Species gerichtete Substanzen, die wir im Blutserum vorbehandelter Tiere neben den Hämolysinen auftreten sahen, knüpfen an die Untersuchungen von Neufeld und Rimpau[1]) über die Antikörper der Streptokokken- und Pneumokokkenimmunsera an. Diese Untersuchungen hatten zu dem Ergebnis geführt, daß die Wirkung der genannten Sera auf einem spezifischen Stoffe beruht, welcher die Aufnahme der hochvirulenten Kokken durch die Leukocyten vermittelt, in deren Innern sie alsdann mehr oder weniger schnell der Auflösung unterliegen. Diese Vorgänge ließen sich in durchaus analoger Weise in der Bauchhöhle von Mäusen wie im Reagenzglase beobachten, sobald die Kokken, mit überlebenden Kaninchen- oder Meerschweinchenleukocyten und einer kleinen Menge spezifischen Serums gemischt, eine Zeitlang bei 37 ° gehalten wurden.

In beiden Fällen, sowohl im Tierkörper wie in vitro, ließen sich neben diesen neuartigen Stoffen keine Bakteriolysine nachweisen, auch nicht bei Zusatz von frischem, normalem Serum als Komplement. Metschnikoff vertritt bekanntlich die Annahme, daß die intracelluläre Auflösung von Bakterien (resp. von Zellen) durch 2 Substanzen, nämlich Makro- und Mikrocytase, die er mit dem Buchnerschen „Alexin“ identifiziert, vermittelt wird, und daß diese selben Substanzen bei der Gerinnung des Blutes in das Serum übergehen. Der soeben erwähnte Befund beweist, daß eine solche Annahme zum mindesten in der Allgemeinheit, wie Metschnikoff sie ausspricht, nicht haltbar ist; denn während die Leukocyten im stande waren, verhältnismäßig sehr große Mengen von virulenten Kokken zu verdauen, ließ sich irgend eine Abgabe dieser wirksamen Stoffe in das Serum nicht nachweisen.

Durch die Anwendung des Bindungsversuches nach Ehrlich und Morgenroth gelang es Neufeld und Rimpau festzustellen, daß die von ihnen gefundenen Stoffe nicht, wie Metschnikoff angenommen hat, stimulierend auf die Phagocyten, sondern ausschließlich direkt verändernd auf die Bakterien einwirken; diese werden nunmehr sekundär von den Zellen aufgenommen. Metschnikoff und seine Schule hatten ihrer Auffassung entsprechend die von ihnen supponierten Stoffe als „Stimuline“ bezeichnet und glaubten sogar „Antistimuline“ nachweisen zu können, welche eine spezifische Hemmung der „Stimuline“ bewirken sollten [Besredka[2]), Metschnikoff[3])]. Diese Bezeichnungen sind nicht mehr aufrecht zu erhalten und Neufeld und Rimpau haben daher in einer zweiten, im Druck befindlichen Arbeit die von ihnen studierten Substanzen im Gegensatz zu den bakteriolytischen als bakteriotrope bezeichnet. Diese allgemein gehaltene Bezeichnung sagt nur aus, daß die Wirkung des Serums in einer Art „Umstimmung“

---

[1]) Dtsche med. Wochenschr. 1904.

[2]) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV.

[3]) Metschnikoff, Die Immunität bei Infektionskrankheiten.

der Bakterien besteht, und es dürfte sich wohl empfehlen, dieselbe vorläufig zu acceptieren, bis wir etwa über die Art dieser Veränderung etwas Bestimmteres aussagen können[1]. Im Anschluß an diese Benennung werden wir im folgenden die Ausdrücke „cytotrop“ und „hämotrop“ für die entsprechenden spezifischen Substanzen eines Serums gebrauchen, welche auf Zellen resp. Blutkörperchen derart verändernd einwirken, daß sie von Phagocyten aufgenommen werden können.

Wie erwähnt, konnten Neufeld und Rimpau wenigstens in den von ihnen untersuchten Serumproben neben diesen „bakteriotropen“ keine bakteriolytischen Substanzen nachweisen und sie halten auch eine Angabe von Denys und Leclef[2], die eine direkte Abtötung von Streptokokken durch Immunserum ohne Vermittelung von Zellen sowohl im Tierkörper wie im Reagenzglase beobachtet zu haben glaubten, nicht für erwiesen. Wenn es hiernach wahrscheinlich ist, daß das gegen Streptokokken und Pneumokokken gerichtete Serum den Typus eines rein bakteriotropen darbietet, so ist damit natürlich die Möglichkeit, daß beide Arten spezifischer Substanzen zugleich in einem Serum vorkommen, nicht ausgeschlossen; es wäre das ein analoges Vorkommnis, wie das von Wassermann[3] festgestellte gleichzeitige Auftreten von Antitoxinen und bakteriziden Antikörpern bei der Immunisierung gegen den B. pyocyaneus.

Durch die Annahme, daß sich bei der Immunisierung gegen manche Krankheitserreger gleichzeitig bakteriolytische und bakteriotrope Stoffe bilden, würden manche Differenzen zwischen der Metschnikoffschen und der Pfeifferschen Schule ihre Erledigung finden, und es schien uns daher von Interesse, nach den neu gewonnenen Gesichtspunkten die Untersuchung eines spezifischen Serums vorzunehmen, in dem wir beide Arten von Stoffen vermuten durften. Nach einigen orientierenden Versuchen entschlossen wir uns jedoch, zunächst ein gegen Blutkörperchen gerichtetes Serum zu untersuchen; hat doch das Studium solcher Sera bereits die wichtigsten Anregungen für die ganze Immunitätslehre gegeben. Nach den früheren Beobachtungen von Metschnikoff über die Aufnahme von fremden Blutkörperchen durch die Phagocyten im Peritonealraume von Tieren durften wir erwarten, dasselbe Phänomen auch im Reagenzglase erzielen zu können. Nach Abschluß unserer Versuche fanden wir bei Durchsicht der Literatur, daß gerade bei roten Blutkörperchen bereits Savtchenko[4] und Tarassewitsch[5] derartige Versuche in vitro vorgenommen haben. Wir kommen auf die Resultate dieser Autoren, die in dem für uns wichtigsten Punkte mit den unserigen nicht übereinstimmen, alsbald zurück.

Wir stellten uns zunächst ein spezifisches Serum her, indem wir einem Kaninchen 3mal je 30—50 ccm Ziegenblut intraperitoneal injizierten. Wir erhielten ein hämolytisches Serum, das, inaktiviert, bei geeignetem Komplementzusatz (frisches Ziegenserum) in der Dosis von 0,01 noch gerade 1,0 Ziegenblut komplett löste. Wie Ehrlich und

---

[1] Wright hat die die Phagocytose befördernden Substanzen als opsonische bezeichnet. Diese Benennung möchten wir deshalb nicht für die hier beschriebenen Stoffe annehmen, da die Wrightschen sich im wesentlichen von diesen dadurch unterscheiden, daß sie thermolabil und von ihm nur im normalen Menschenserum gefunden sind (vergl. Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 52. p. 1929).

[2] La cellule. 1895.

[3] Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXII.

[4] Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.

[5] Ibid. p. 150—152.

Morgenroth, verwandten wir stets eine 5-proz. Aufschwemmung der Blutkörperchen und füllten alle Röhrchen mit Kochsalzlösung auf 2,0 auf. Nebenher sei bemerkt, daß dasselbe Serum außerdem die Ziegenblutkörperchen kräftig agglutinierte.

Dieses Kaninchenserum untersuchten wir nunmehr auf den Gehalt an „hämotropen“ Substanzen. Um dabei eine Auflösung der Blutkörperchen zu vermeiden, wurde es stets durch halbstündiges Erhitzen auf 56—60° inaktiviert. Im übrigen war unsere Technik folgende: Die Ziegenblutkörperchen verwandten wir wiederum meist im Verhältnis von 1 : 20 mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, jedoch mit dem Unterschiede, daß sie zuvor sorgfältig 2—3mal mit Kochsalzlösung gewaschen und abzentrifugiert wurden. Die Leukocyten gewannen wir entweder von Kaninchen durch intrapleurale oder von Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion einer dicken Aleuronataufschwemmung. Ein sehr wesentlicher Punkt ist es, daß man nur gut bewegliche und lebenskräftige Leukocyten zum Versuche verwendet; bei einiger Uebung kann man meist schon am hängenden Tropfen beurteilen, ob die Leukocyten von geeigneter Beschaffenheit sind oder nicht. Nicht jedes Exsudat liefert genügend bewegliche Leukocyten, und zwar hatten wir in dieser Beziehung bei Kaninchen viel häufiger Mißerfolge als bei Meerschweinchen. Meist benutzten wir 24-stündige Exsudate, in anderen Fällen 2- und 3-tägige, ohne einen prinzipiellen Unterschied zu konstatieren. Durch schnelle und ausgiebige Verdünnung gelingt es meistens, die nachträglishe Gerinnung der Exsudate zu verhindern. Nachdem die Röhrchen zentrifugiert waren, wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen, die Reste derselben mit Filtrierpapier möglichst vollständig abgesogen und darauf der Bodensatz vor dem abermaligen Zentrifugieren sorgfältig in neuer Kochsalzlösung verrieben. Durch derart 3mal wiederholtes, ausgiebiges Waschen mit großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung wurden die Leukocyten nach Möglichkeit von anhaftenden Exsudatresten befreit. Auf die Wichtigkeit des gründlichen Auswaschens der Leukocyten kommen wir noch zurück.

Zu den Versuchen nahmen wir meist 0,2 einer recht konzentrierten Leukocytenaufschwemmung; dieselbe muß bei Prüfung im hängenden Tropfen mit Immersion etwa 20—30 Zellen im Gesichtsfelde enthalten, die zum Teil einzeln, zum Teil in kleinen Gruppen liegen. Dazu setzten wir im Reagenzglase 0,2 der Blutkörperchenaufschwemmung und 0,2 des zu prüfenden Serums. bezw. eine entsprechende Verdünnung des Serums. Die Röhrchen wurden durchgeschüttelt und in den Brütschrank gestellt, von Zeit zu Zeit entnahmen wir Proben zur Untersuchung im hängenden Tropfen. Die suspendierten Zellen sinken schnell zu Boden und kleben ziemlich fest an der Kuppe des Reagenzglases an; es ist deshalb nötig, die Röhrchen vor der Entnahme stark zu schütteln oder mit der Platinnadel die Zellschicht vom Glase abzukratzen.

Mischten wir nun in der beschriebenen Weise das spezifische, gegen Ziegenblutkörperchen gerichtete Serum unseres Kaninchens (das natürlich stets inaktiviert wurde, um die Hämolyse zu vermeiden) mit Ziegenblutkörperchen und mit Leukocyten, so sahen wir eine äußerst lebhafte Phagocytose eintreten, die meist in etwa $1^1/_2$ Stunden ihren Höhepunkt erreichte. Bisweilen waren um diese Zeit annähernd sämtliche Leukocyten mit roten Blutkörperchen vollgestopft, in einzelnen Leukocyten vermochten wir 6—8 davon zu zählen. Die aufgenommenen

Blutkörperchen werden im Innern der Phagocyten aufgelöst; soweit unsere Beobachtungen darüber reichen, erfolgt die Auflösung ziemlich langsam und ungleichmäßig.

An der Phagocytose beteiligen sich sowohl die einkernigen wie die polynukleären Leukocyten; wenn auch die Aufnahme durch die ersteren etwas schneller und ausgiebiger geschieht (im Gegensatz zu dem umgekehrten Verhalten bei der Phagocytose der Streptokokken), so konnten wir doch einen prinzipiellen Unterschied zwischen den „Makro“- und „Mikrophagen“ nicht finden.

Kontrollen wurden sowohl mit normalem (inaktiviertem) Kaninchenserum als auch mit Kochsalzlösung angestellt.

Um die Befunde in diesen Kontrollröhrchen zu beurteilen, muß man sich daran erinnern, daß sich schon in den meisten Aleuronatexsudaten vereinzelte Leukocyten finden, die ein oder ein paar Blutkörperchen des eigenen Tieres aufgenommen haben; so darf man sich natürlich nicht wundern, daß man in jeder Kontrolle ab und zu ein Blutkörperchen im Innern eines Leukocyten sieht. Anfangs begegnet es uns jedoch öfter, daß in denjenigen Kontrollen, die anstatt des spezifischen Serums nur Kochsalzlösung enthielten, eine etwas reichlichere Phagocytose auftrat, wenn auch niemals in ähnlichem Grade wie bei Zusatz des spezifischen Serums. Je mehr wir uns jedoch Mühe geben, in der oben beschriebenen Weise die Leukocyten von den letzten Resten des Exsudates zu befreien, um so reiner fielen die Kontrollen aus, und schließlich erhielten wir in der Regel Kontrollen, die nur ganz vereinzelte Phagocytose zeigten. Wir möchten daher annehmen, daß in den Exsudatflüssigkeiten Stoffe enthalten sein können, welche fremde Blutkörperchen zur Aufnahme in einen Leukocyten geeignet machen.

Daß das normale Kaninchenserum ebenfalls derartige hämotrope Substanzen enthalten kann, schließen wir aus denjenigen Kontrollröhrchen, bei denen das spezifische Serum nicht durch Kochsalzlösung, sondern durch normales Kaninchenserum ersetzt wurde. Hier sahen wir bei Zusatz von 0,2 Serum nicht ganz selten Phagocytose auftreten. Diese Phagocytose war jedoch an Intensität nicht mit der durch spezifisches Serum erzeugten zu vergleichen und blieb ganz aus, sobald wir das normale Serum auf 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnten, während das spezifische Serum in dieser Verdünnung noch seine volle Wirksamkeit behielt. Die untere Grenze der Wirksamkeit haben wir nicht festgelegt.

Um die Spezifität unseres durch Injektion von Ziegenblut gewonnenen Serums weiterhin zu prüfen, nahmen wir statt der Ziegenblutkörperchen solche von Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben. Es zeigte sich, daß das Serum die Phagocytose bei diesen Blutarten nicht beförderte oder doch nicht in höherem Grade als ein normales Kaninchenserum. Andererseits zeigt unser Serum bei der Verwendung von Ziegenblut seine hämotrope Kraft jedesmal, gleichviel ob wir dieselbe an Kaninchen- oder an Meerschweinchenleukocyten erprobten.

Das Serum verhält sich also elektiv gegen Blutkörperchen, aber nicht elektiv gegen Leukocyten, und dieses Verhalten spricht deutlich dafür, daß es nicht „stimulierend“ auf die Phagocyten, sondern verändernd auf die Blutkörperchen einwirkt: die Phagocyten nehmen nunmehr sekundär die „sensibilisierten“ Blutkörperchen auf.

Bewiesen wird diese Auffassung des weiteren durch den Bindungs-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

versuch, den wir in derselben Weise und mit demselben Resultat anstellten, wie er in der Arbeit von Neufeld und Rimpau für das Strepto- und Pneumokokkenimmunserum angegeben ist. Wir versetzten 0,1 des (inaktivierten) spezifischen Serums einmal mit 1,0 der 5-proz. Suspension von Ziegenblutkörperchen, andererseits 0,1 desselben Serums mit 0,5 einer Leukocytenaufschwemmung; die Röhrchen ließen wir $^1/_2$ Stunde teils bei 37°, teils bei 0° stehen, zentrifugierten dann nach reichlichen Zusatz von Kochsalzlösung ab und wuschen noch zweimal auf das sorgfältigste in der oben geschilderten Weise. Setzten wir zu den abzentrifugierten und gewaschenen Blutkörperchen frische Leukocyten zu, so trat lebhafte Phagocytose ein; dieselbe blieb dagegen aus, wenn wir zu den abzentrifugierten Leukocyten Blutkörperchen zusetzten. Daß die Leukocyten nicht etwa durch die Prozedur des wiederholten Waschens an sich die Fähigkeit zur Phagocytose eingebüßt hatten, wurde durch Kontrollversuche festgestellt. Also nicht die Leukocyten, sondern die roten Blutkörperchen gehen mit dem spezifischen Bestandteil des Serums eine Bindung ein.

Wir haben diese bereits abgeschlossenen Versuche nochmals wiederholt, nachdem wir bei Durchsicht der Literatur gefunden hatten, daß frühere Autoren, Savtchenko[1]) und Tarassevitch[2]), zu dem Ergebnis gekommen sind, daß der spezifische Bestandteil des gegen Blutkörperchen einer fremden Species gerichteten Serums nicht nur von diesen Blutkörperchen, sondern auch von den Leukocyten der anderen Tierart gebunden wird. Savtchenko arbeitete mit dem Serum von Kaninchen, die mit Meerschweinchenblutkörperchen vorbehandelt waren, und konstatierte, daß die roten Blutkörperchen, wenn sie $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur in Kontakt mit dem (inaktivierten) Serum gelassen werden, den „Fixator“ binden; wurden sie einem Meerschweinchen in das Peritoneum injiziert, so trat eine lebhafte Phagocytose auf. Savtchenko hat auch bereits im Reagenzglase die „sensibilisierten“ Blutkörperchen mit Meerschweinchenleukocyten, die er durch Injektion von Bouillon in die Bauchhöhle erhielt, zusammengebracht und auch unter diesen Bedingungen die Phagocytose eintreten sehen. Er schließt hieraus, daß die Blutkörperchen in der Tat den „Fixator“ des fremden Serums binden können; bis hierher decken sich also seine Befunde mit den unserigen.

Aber auch die Phagocyten können nach Savtchenkos Ansicht den Fixator an sich reißen. Hier ist die Versuchsanordnung des Autors allerdings eine andere als die unserige, die, wie berichtet, zu dem entgegengesetzten Resultat führte. S. hat die Bindung des spezifischen Serumbestandteiles durch die Leukocyten nicht im Reagenzglase, sondern im Tierkörper beobachtet. Er injizierte Meerschweinchen intraperitoneal das spezifische Serum mit Bouillon versetzt, um durch letztere zugleich ein leukocytenhaltiges Exsudat hervorzurufen. Am nächsten Tage wurde den Tieren zur Verdünnung dieses Exsudates 2,0 auf 37° erwärmte Kochsalzlösung injiziert; unmittelbar danach wurden sie getötet, das Exsudat zentrifugiert, der Bodensatz mit 10,0 Kochsalzlösung unter sorgfältigem Schütteln aufgeschwemmt und nochmals zentrifugiert. Nach Abgießen der Flüssigkeit wurde der Bodensatz nunmehr in 1,0

---

[1]) Ann. de l'Institut Pasteur. 1902.
[2]) Ebenda. p. 150—152.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit (mehrfach gewaschenen, ebenfalls in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten) Meerschweinchenblutkörperchen versetzt: darauf sah der Autor Phagocytose eintreten, die er auf das von den Leukocyten gebundene „Stimulin“ zurückführt.

Einen weiteren Beweis dafür, daß die Leukocyten den „Fixator“ absorbieren, sieht Savtchenko in folgendem. Injizierte er Meerschweinchen, bei denen er ein leukocytenhaltiges Exsudat in der Bauchhöhle hervorgerufen hatte, zuerst das spezifische Serum und danach Blutkörperchen, so sah er, daß diese Blutkörperchen ausschließlich durch Phagocytose, nicht durch Hämolyse zu Grunde gingen; auch wenn er eine beträchtliche Dosis von frischem Serum als Komplement mit einspritzte, blieb die Hämolyse aus. Hieraus schließt der Autor, daß in diesem Falle die Erythrocyten bei ihrer Aufnahme durch die Exsudatzellen nicht mit Fixator beladen waren, denn sonst hätte bei Gegenwart von Komplement Hämolyse eintreten müssen: also mußten Leukocyten den Fixator an sich gerissen haben, „ce qui détermine le changement de leur sensibilité.“

Tarassevitch wiederholte die Versuche Savtchenkos in derselben Anordnung, indem auch er die Bindung des Fixators durch die Erythrocyten im Reagenzglase, durch die Leukocyten dagegen nur im Tierkörper erfolgen ließ. In beiden Fällen sah er Phagocytose eintreten, die in letzterem Falle allerdings schwächer als in dem ersteren war. Er glaubt sich zu dem Schlusse berechtigt: „L'influence stimulante des fixateurs sur la fonction phagocytaire est donc bien évidente.“

Unsere Versuche haben uns, wie erwähnt, zu dem entgegengesetzten Ergebnis geführt, daß nämlich die spezifische hämatrope Substanz des Serums nur von den Blutkörperchen, auf die sie eingestellt ist, nicht aber von den Leukocyten fixiert wird, ganz in derselben Weise, wie es sich in der Arbeit von Neufeld und Rimpau für die bakteriotropen Antikörper ergeben hatte. Die Ursache für das entgegengesetzte Resultat der beiden angeführten Untersucher möchten wir in Mängeln ihrer Versuchsanordnung suchen. Die Angabe von Tarassevitch, daß die Phagocytose bei der Bindung durch die Leukocyten deutlich schwächer gewesen sei, als bei der Bindung durch die Blutkörperchen, läßt die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, daß sie bei sorgfältigerem Waschen der Leukocyten noch geringer geworden wäre, daß es sich also um mechanisches Anhaften des Serums gehandelt hat. Nach unseren Erfahrungen halten wir es für möglich, daß bei ungenügendem Waschen der Leukocyten durch das mechanische Anhaften hämotroper Substanz eine spezifische Bindung vorgetäuscht sein dürfte. Andererseits scheint uns aber nur eine Bindung in vitro, insbesondere eine solche bei niederer Temperatur, absolut beweisend zu sein; demgegenüber möchten wir bei den komplizierten Verhältnissen am lebenden Tiere die entfernte Möglichkeit, daß bei dem Stoffwechsel der lebenden Zellen etwa zugleich mit anderen Bestandteilen eines fremden Serums auch spezifische Immunkörper aufgenommen werden, die später wieder ausgeschieden werden könnten, nicht für ganz ausgeschlossen erklären.

In jedem Falle sehen wir unsere Versuchsanordnung als die einfachere und als eine absolut eindeutige an, und das Resultat, zu dem sie uns geführt hat, als das einzige, das sich mit den festen Grundlagen, auf denen das von Ehrlich und seinen Mitarbeitern errichtete System beruht, in Einklang bringen läßt. Trotz der Ausführungen, in denen Metschnikoff[1]) seine Annahme der „Stimuline“ mit der Seitenkettentheorie als wohl vereinbar erklärt, vermögen wir uns die Bildung der die Phagocytose auslösenden bakteriotropen resp. cytotropen Substanzen nur so vorzustellen, daß bei Vorbehandlung eines Tieres mit fremden Blutkörperchen Stoffe entstehen, die eben zu diesen Blutkörperchen oder bei Vorbehandlung mit Streptokokken Stoffe, die wiederum zu diesen Streptokokken eine spezifische Verwandtschaft haben. Die Annahme dagegen, daß gleichviel, ob wir einem Kaninchen die Blutkörperchen eines Meerschweinchens, oder einem Pferde, einem Kaninchen, einer Ziege Streptokokken oder Pneumokokken einspritzen, daß in allen diesen Fällen Substanzen sich bilden sollten, die sämtlich ihren Angriffspunkt in den Leukocyten der verschiedensten Tierarten haben — diese Annahme scheint uns mit der Grundidee der Ehrlichschen Theorieen völlig unvereinbar.

Natürlich haben wir uns die Frage vorgelegt, ob die Serumbestandteile, deren Wirkungen wir geschildert haben, etwa mit anderen bereits bekannten Stoffen identisch sind. Eine Identität mit den Agglutininen erschien uns von vornherein sehr wenig wahrscheinlich, und wir halten diese Frage durch die Beobachtung von Neufeld und Rimpau, die unter ihren stark bakteriotropen Serumproben auch eine solche hatten, die gar nicht agglutinierte, sowie durch unseren unten näher mitgeteilten Versuch für erledigt, in welchem umgekehrt ein Serum starken Gehalt an Hämagglutininen, aber gar keine hämatrope Wirkung zeigte.

Dagegen mußte bei der Untersuchung des Streptokokken- und Pneumokokkenimmunserums die Frage offen bleiben, welche Beziehungen zwischen den bakteriotropen und den bakteriolytischen Antikörpern bestehen. Möglicherweise konnten beide Stoffe im Grunde identisch sein und die extracelluläre Auflösung bei diesen Mikroorganismen nur deswegen ausbleiben, weil der Ambozeptor wenigstens in dem Serum der von uns untersuchten Tierarten kein passendes Komplement findet. Bei der Immunisierung mit anderen Bakterien dagegen, gegen die sich ein immunisiertes Tier sowohl durch extracelluläre Auflösung der Bakterien als auch durch Phagocytose schützt, durften wir hoffen, die Frage zu entscheiden, ob beide Vorgänge durch denselben spezifischen Stoff oder durch zwei verschiedene Stoffe ausgelöst werden. Wir haben auch hier zunächst die Verhältnisse bei der Immunisierung mit Blutkörperchen untersucht, glauben aber, mit Sicherheit ein analoges Verhalten bei der bakteriellen Immunität annehmen zu können. Savtchenko sowohl wie Tarassevitch gehen, wie die obigen Zitate ergeben, immer von der Ansicht aus, daß die Phagocytose befördernde Substanz des Serums mit dem „Fixator“, d. h. dem Hämo- bezw. Bakteriolysin identisch sei. Wenn sich nun im Gegenteil erweisen läßt, daß beide Stoffe völlig voneinander verschieden sind, so erscheinen uns viele strittige Fragen über das Zustandekommen und die Bedeutung der Phagocytose in einem ganz anderen Lichte.

Unsere bisher mitgeteilten Beobachtungen bezogen sich auf das Serum von Kaninchen, die mit Ziegenblut vorbehandelt waren; dieses Serum hatte sich zugleich als stark hämolytisch und hämotrop erwiesen.

---

[1]) Immunität bei Infektionskrankheiten.

Wir behandelten nun einige Kaninchen mit Meerschweinchenblut und erhielten nach mehreren Injektionen ein Serum, von dem (bei Verwendung inaktivierten Serums und geeignetem Komplementzusatz) 0,01 bis 0,02 in der eingangs angegebenen Versuchsanordnung 1,0 einer 5-proz, Aufschwemmung von Meerschweinchenblut noch stark, bezw. fast komplett löste; in Bezug auf hämolytisches Vermögen entsprach es also ungefähr dem oben beschriebenen gegen Ziegenblut gerichteten Serum, daneben war auch die Agglutination stark ausgesprochen. Dieses Serum nun beförderte in keiner Weise die Phagocytose: wir haben es mehrfach wiederholt mit Meerschweinchen-Blutkörperchen und gut beweglichen Leukocyten von Meerschweinchen oder Kaninchen im Reagenzglase zusammengebracht und stets negativen Erfolg gehabt. Nun hat Savtchenko[1]) bei Benutzung derselben Tierarten und sonst entsprechender Versuchsanordnung starke Phagocytose auftreten sehen. Wir möchten diese Beobachtung in keiner Weise anzweifeln, sondern ein individuell verschiedenes Verhalten, wie es sich vielfach bei der Bildung von Antikörpern findet, annehmen.

Wir haben also einen Fall vor uns, in welchem nur hämolytische, aber keine hämotropen Antistoffe auftreten, und schließen daraus, daß beide Arten von Stoffen nicht identisch sind. Nebenher sehen wir die frühere Feststellung bestätigt, daß auch die Agglutinine nichts mit den hämo- resp. bakteriotropen Substanzen zu tun haben.

Wir glauben diese Schlußfolgerung (ohne daß wir damit die weiteren Details unserer Versuche über hämotrope Sera schematisch auf die noch nicht erforschten Verhältnisse bei bakteriotropen Seris anwenden wollen) auch auf die Immunität gegen Bakterien übertragen zu dürfen und nehmen also an, daß es sich in denjenigen Seris, von denen man nach den bisher vorliegenden Beobachtungen vermuten muß, daß sie zu gleicher Zeit bakteriolytisch und bakteriotrop wirken, um zwei völlig verschiedene Substanzen und nicht etwa um einen Stoff handelt, der zwei verschiedene Wirkungen auszulösen im stande ist. Aus äußeren Gründen konnten wir selbst unsere Versuche nach dieser Richtung nicht fortsetzen.

Nachdruck verboten.

Studien über die Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung gegen Botulismus.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Lund.]

Von Prof. Dr. **J. Forssman**, Lund.

Mit 2 Kurven.

Vor einigen Jahren veröffentlichten Dr. E. Lundström und Verf. dieses[2]) Angaben über den Verlauf der Antitoxinkurve beim Botulismus. Ich habe mich seitdem von Zeit zu Zeit mit Untersuchungen über die Immunität gegen dieses Gift beschäftigt und werde im folgenden einige der hierbei erhaltenen Resultate mitteilen.

---

[1]) a. a. O.

[2]) Forssman et Lundström, Annales de l'Institut Pasteur. 1902.

Im Verlaufe der regen, nach der **Behring**schen Entdeckung des Tetanusantitoxins erfolgten Versuche, Antitoxine (Sera) darzustellen, machte man bald die Erfahrung, daß die Serumfabrikation mit viel größeren Schwierigkeiten, als man anfangs vermutete, verbunden war. Es stellte sich insbesondere als absolut unmöglich heraus, die quantitative Antitoxinausbeute einer Immunisierung im voraus zu berechnen. Nicht nur verschiedene Tiere einer und derselben Art erwiesen sich als sehr ungleichwertige Antitoxinproduzenten, auch bei einem und demselben Tiere rufen ganz gleiche Toxindosen bei verschiedenen Gelegenheiten, obgleich an derselben Stelle des Tieres injiziert, das eine Mal eine sehr starke, das andere Mal nur eine fast belanglose Antitoxinproduktion hervor. Eine Gesetzmäßigkeit in diesen Verhältnissen herauszufinden, ist auch bis jetzt nicht gelungen.

Man hat jedoch bei den seitdem ausgeführten, überaus zahlreichen Immunisierungen selbstverständlich viele diesbezügliche, für die Serumfabrikation maßgebende Beobachtungen verzeichnen können. Unter anderem fiel es bald auf, daß es bei der Immunisierung gegen Diphtherietoxin sehr unzweckmäßig war, das Toxin intravenös einzuspritzen. In letzterem Falle bekam man nämlich entweder fast gar kein Antitoxin oder bestenfalls nur sehr wenig im Verhältnis zu der durch eine ebenso große subkutan injizierte Toxindose hervorgerufenen Menge.

Auf diese Beobachtungen gestützt, hat **Dzierzgowski**[1]), der auf diesem Gebiete eine sehr große Erfahrung besitzt, die Meinung ausgesprochen, daß „l'injection de la toxine dans le torrent circulatoire ne contribue pas à la production d'antitoxine“, und für diese Auffassung viele Anhänger gewonnen. Er findet übrigens, daß sie mit unseren theoretischen Anschauungen sehr gut übereinstimmt: „Ce fait devient compréhensible si l'on se souvient que le mélange de toxine et d'antitoxine in vitro n'est guère capable à produire dans l'organisme d'antitoxine et que par l'injection de toxine dans la veine on réalise les conditions comparables à celles que l'on observe dans un tube à essai“. Nach **Dzierzgowski** sollte also das Toxin, das in die Blutbahn hineingelangt, sogleich vom zirkulierenden Antitoxin neutralisiert und ihm in dieser Weise jeder Einfluß auf die Antitoxinbildung entzogen werden. Und dasselbe gilt natürlich nicht nur vom intravasal injizierten Toxin, sondern auch ebenfalls von dem Toxin, das bei subkutaner Injektion nach erfolgter Resorption in das Gefäßsystem eindringt. Daß subkutane Toxininjektionen nichtsdestoweniger bei einem immunisierten Tiere die Bildung von oft sehr großen Antitoxinmengen hervorrufen können, würde nach **Dzierzgowski** davon abhängen, daß der Antitoxingehalt in der Subcutis im Verhältnis zu dem des Blutes sehr gering ist, und daß aus diesem Grunde nur sehr wenig des subkutan injizierten Toxins an der Injektionsstelle neutralisiert werden kann, dagegen der größte Teil auf die dortigen Zellen fixiert wird und diese nachträglich zur Antitoxinbildung anregt.

Nach dieser Auffassung wäre die Antitoxinbildung als ein Prozeß nur lokaler Art zu betrachten.

Die hier besprochene Deutung ist ursprünglich nur für die Verhältnisse bei der Diphtherieimmunisierung ausgesprochen worden. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind aber die Prozesse, die sich bei den Immunisierungen gegen die verschiedenen Toxine im Organismus abspielen,

---

1) **Dzierzgowski**, Arch. des sciences biolog. de St. Pétersbourg. T. V et IX.

prinzipiell dieselben. Es wäre ja auch nach unserem jetzigen Wissen schwer zu verstehen, warum z. B. das intravasale Tetanus- oder Botulismusantitoxin das in die Gefäße eingedrungene entsprechende Toxin nicht ebensogut zu neutralisieren im stande sein sollte, als es bei der Diphtherie der Fall ist.

Daß das Gewebe auf der Injektionsstelle von Bedeutung für die Antitoxinbildung des Organismus ist, zeigen mehrere Tatsachen; und dies nicht nur bei der Diphtherieimmunisierung, sondern auch bei anderen Toxinimmunisierungen. So zeigt z. B. Römer in seinen bekannten Versuchen über Abrinimmunisierung, daß auf einer bestimmten frühen Stufe der Immunität diejenige Conjunctiva, von welcher aus die Immunisierung vorgenommen wird, eine gegebene Giftdosis neutralisiert, während die andere Conjunctiva gar keine neutralisierende Einwirkung auf das Gift ausübt, was ja nicht anders gedeutet werden kann, als daß hier eine lokale Antitoxinbildung in der erstgenannten Conjunctiva stattgefunden hat.

Daß aber das in die Zirkulation eingedrungene Toxin ohne jede Bedeutung für die Antitoxinbildung war, scheint uns andererseits keineswegs sichergestellt, ebensowenig als die oben erwähnte Anschauung Dzierzgowskis über die Neutralisationsverhältnisse des Toxins und des Antitoxins innerhalb der Gefäße. Denn es ist gar nicht bewiesen worden, daß die Neutralisation zwischen Toxin und Antitoxin hier auf dieselbe Weise wie in vitro verläuft. Man weiß sogar nicht, ob im immunisierten Tiere das Antitoxin als solches oder vielleicht als ein Vorstadium desselben vorkommt, das erst beim Auslaufen des Blutes oder beim Tode des Tieres in Antitoxin übergeht[1]). Eben in Bezug auf die Frage über die intravasale Neutralisation bin ich durch einige Beobachtungen zu einer Ueberzeugung gekommen, die derjenigen Dzierzgowskis ganz entgegengesetzt ist; ich meine nämlich, daß die Neutralisation zwischen Toxin und Antitoxin (oder deren Vorstufen) innerhalb und außerhalb des Organismus in verschiedener Weise verläuft. Aus diesem Grunde glaubte ich auch, daß das Toxin, in die Zirkulation eingespritzt, zur Antitoxinbildung Veranlassung geben könnte; und wenn dies wirklich der Fall wäre, hatte man zu erwarten, daß die Antitoxinbildung nicht nur quantitativ verschieden, sondern geradezu nach einem ganz anderen Schema als bei der subkutanen Toxininjektion verlaufen sollte, weil dann in den beiden Fällen wahrscheinlich verschiedene Zellengruppen die Antitoxinproduktion übernehmen werden.

Um diese Frage zu eruieren, habe ich folgende Versuche mit einer gegen Botulismustoxin immunisierten Ziege gemacht, welches Tier schon früher angewandt worden ist, um die Botulismusantitoxinkurven nach subkutanen Toxininjektionen zu bestimmen.

Beim betreffenden Tiere wurde nun, nachdem ihm zuerst eine kleine Blutprobe (20 ccm) entnommen worden war, in die Vena jugularis 100000 Testdosen[2]) des Botulismustoxins injiziert. Die injizierte Toxinlösung, die 87 ccm betrug, wurde sehr langsam, es dauerte 5 Minuten, in die Vene eingespritzt, damit sie sogleich mit größeren Blutmengen in Berührung kommen sollte, teils darum, weil das Tier bei schnellerer Injektion sehr kurzatmig wurde.

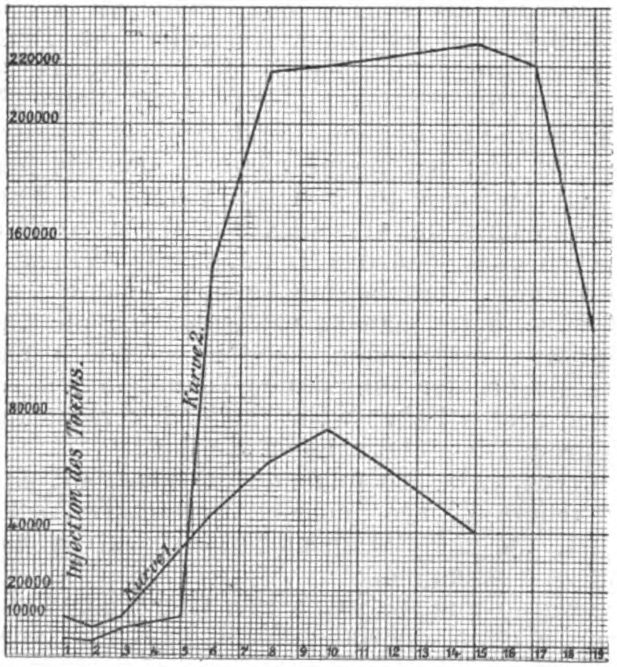
---

1) Daß es gelungen ist, Antitoxin in Citrat- und Oxalatplasma nachzuweisen, beweist hierbei nicht viel, weil das Blut durch solche Zusätze erheblich verändert wird.

2) Eine Testdosis = eine Toxindosis, die in 48 Stunden ein Meerschweinchen von 250 g tötet.

Jeden oder jeden 2. Tag wurden dann Blutproben entnommen und die hieraus gewonnenen Sera auf ihren Antitoxingehalt geeicht. Bei dieser Eichung wurde zu einem bestimmten Serumquantum so viel Toxin gesetzt, bis die Mischung ein Meerschweinchen von 250 g in 4—5 Tagen tötete; die Zahl der hierfür pro Kubikzentimeter Serum nötigen Testdosen wurde als die Wertigkeit des Serums bezeichnet. In den früheren von Lundström und mir publizierten Kurven bezeichnen die Serumwerte die Zahl von Testdosen pro Kubikzentimeter Serum, die hinzugefügt werden mußten, um ein Meerschweinchen in 48 Stunden zu töten.

Die Todeszeit der Meerschweinchen von 48 Stunden auf 4—5 Tage zu verlängern, bedeutet, daß im letzten Falle genau nur eine tödliche Dosis in der Mischung frei enthalten ist: denn die Tiere, die nicht in dieser Zeit nach der Injektion sterben, überleben. Durch vergleichende Versuche, um die größere Schärfe der einen oder anderen Technik klarzulegen, habe ich gefunden, daß die jetzige die bessere ist. Jetzt, ebensowohl als früher, haben die Injektionen der Mischungen von Toxin und Antitoxin immer bei bis 100000-wertigen Sera 200 Testdosen, bei noch höherwertigen Seren 500 Testdosen enthalten. Daß die Sera einer Kurve immer mit derselben Toxinlösung, die während der ganzen Zeit der Bestimmung sämtlicher Sera konstante Giftigkeit beibehalten mußte, geeicht sind, ist ganz klar. Die Toxinlösung (d. h. die filtrierte Kulturflüssigkeit) ist immer ohne weitere Verdünnung angewandt worden.



Nach diesen Bemerkungen lasse ich jetzt die nach der intravasalen Toxininjektion gefundene Antitoxinkurve (Kurve I) folgen. Die Ordinaten bedeuten wie gewöhnlich die Serumwerte, die Abscissen die Zahl der Tage nach der Injektion.

Nachdem ich diese Kurve gefunden hatte, habe ich, ohne die ganzen Kurven aufzuzeichnen, noch 2 mal nach erneuerten intravasalen Toxininjektionen das Verhältnis der Serumwerte am 10. bezw. 15. Tage nach den Injektionen kontrolliert und dabei folgende Werte der geprüften Sera erhalten; in einem Falle 72000 bezw. 50000, im anderen 125000 bezw. 115000. Regelmäßig sind also hier die Serumwerte entschieden höher am 10. als am 15. Tage, was eben das Gegenteil zu dem bildet, das man nach einer subkutanen Toxininjektion beobachtet. Auf den nach diesen letztgenannten Injektionen gewonnenen Antitoxinkurven, von denen ich zum Vergleich die eine (Kurve 2) wiedergebe, befindet sich immer der Scheitelpunkt auf dem 15. Tage.

Dies bildet übrigens nicht den einzigen Unterschied zwischen den nach den intravenösen und den subkutanen Toxininjektionen erhaltenen Kurven. Aber die Kurven nach der subkutanen Injektion stammten aus dem Jahre 1900, und ich konnte die Möglichkeit nicht verneinen, daß vielleicht die Form ebensowohl als die Höhe der Antitoxinkurven von Zeit zu Zeit wechseln könnten, daß mit anderen Worten die Kurve nach einer subkutanen Injektion vielleicht jetzt von den früher gezeichneten Kurven nach subkutanen Einspritzungen abweichen und möglicherweise mit denjenigen nach den intravenösen Injektionen übereinstimmen würde. Um zu prüfen, wie sich dies in der Wirklichkeit verhält, spritzte ich jetzt eine Toxinlösung der Ziege subkutan ein. In den hiernach gewonnenen Sera fand ich aber die alte Antitoxinkurve wieder, wie ich sie zusammen mit Lundström 1900 ermittelt hatte. Ihr höchster Punkt lag auf dem 15. Tage; die Serumwerte des 10. und des 15. waren resp. 305000 und 355000.

Durch diese Versuche ist es also klar bewiesen worden, daß beim Botulismus auch durch das intravenös eingespritzte Toxin eine Antitoxinbildung hervorgerufen wird. Der Serumwert stieg in den drei untersuchten Fällen, im ersten Fall von 10000 auf 75000, im zweiten von 10000 auf 70000 und im dritten 13000 auf 125000.

Die Kurven erheben sich jedoch nach den intravenösen Injektionen niemals zu einer solchen Höhe, wie nach den subkutanen; die Antitoxinproduktion ist in jenem Falle bedeutend kleiner als in diesem; wie es für die Bildung der Diphtherieantitoxine der Fall ist, so hat augenscheinlich auch hier das subkutane Gewebe eine große Bedeutung für die Antitoxinproduktion.

Wie ersichtlich, enthielt das unmittelbar vor den Toxininjektionen gewonnene Serum so erhebliche Mengen Antitoxin, daß nach Berechnung einige Zehntel Kubikzentimeter ausreichend waren, um das injizierte Toxin zu neutralisieren. Da dessenungeachtet nach den intravasalen Injektionen eine reichliche Antitoxinbildung zu stande kam, die ja nicht von einer neutralen Mischung von Toxin und Antitoxin ausgelöst wird, so scheint mir dies anzudeuten, daß die Neutralisation zwischen Toxin und Antitoxin im Organismus und in vitro nicht in derselben Weise verläuft.

Die Schlußfolgerungen, die ich hier vorgetragen habe, gelten, streng genommen, nur für das Toxin und Antitoxin des Botulismus, aber wahrscheinlich treffen sie auch für andere Toxine und Antitoxine zu. In Bezug auf die Verhältnisse bei der Diphtherie ersieht man auch aus den Versuchstabellen Dzierzgowski, daß die einzigen mit intravasalen Toxininjektionen behandelten Pferde, die er erwähnt (Pferde No. 163 und 158) in Wirklichkeit Antitoxin produziert haben. Da die Menge aber relativ klein war, so nimmt Dzierzgowski hierauf keine Rücksicht, sondern spricht sich, wie oben angeführt wurde, dahin aus, daß so gemachte Injektionen ohne Bedeutung für die Antitoxinbildung sein sollten. Beim Dzierzgowskischen Pferde 163 stieg doch der Antitoxingehalt bis zu 20 I.-E.; wie die Antitoxinkurve hier aussah, ist unbekannt; möglich ist, daß Dzierzgowski höhere Werte bekommen hätte, wenn er das Aderlassen zu anderen Zeitpunkten gemacht hätte, denn es ist nicht wahrscheinlich, daß er zufälligerweise gerade auf den Gipfelpunkt der unbekannten Antitoxinkurve nach intravasalen Toxininjektionen gefallen ist.

Wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, haben alle diejenigen Kurven, die nach subkutanen Toxininjektionen erhalten werden, unter sich die gemeinsame Eigenschaft, daß ihr Maximum auf dem 15. Tage nach den Injektionen liegt, ebenso wie andererseits der 10. Tag den höchsten Punkten der Antitoxinkurven nach intravenösen Injektionen entspricht.

Dies scheint sehr konstant zu sein, wie viel die Kurven auch sonst untereinander variieren mögen.

Diese durchgehende Verschiedenheit zwischen den Antitoxinkurven der subkutanen und den der intravasalen Injektionen rührt wahrscheinlich daher, daß verschiedene Zellengruppen mit verschiedenem Sekretionsvermögen in Wirksamkeit treten, oder daß wenigstens die Antitoxinbeiträge der Zellen in den beiden Fällen verschieden ausgiebig werden. Wenn man voraussetzt, daß Rezeptoren für ein bestimmtes Gift in mehreren ungleichwertigen Geweben des Organismus zu finden sind, so ist es auch sehr plausibel, daß man ebensoviele verschiedene Antitoxinkurven bekommt, wie solche rezeptorenhaltige Gewebe existieren.

Auf dieselbe Weise, wie ich jetzt durch intravasale Injektion eine von den nach subkutanen Toxininjektionen verschiedene Antitoxinkurven gefunden habe, gelingt es vielleicht, eine spezielle renale, intracerebrale etc. Antitoxinkurve nach Injektionen des Toxins in die Niere, ins Gehirn u. s. w. zu erhalten; nachdem das eine oder andere Gewebe durch die Injektionen hauptsächlich interessiert wird.

Doch geht ja immer ein wenig Toxin durch Resorption ins Blut hinüber und dadurch wird immer die intravasale Kurve sich zu den übrigen addieren.

Es ist klar, daß man durch ein systematisches Studium der diesbezüglichen Verhältnisse eine genauere Kenntnis der Bildungsstätten des Antitoxins erhalten wird, wie es auch von praktischer Bedeutung für die Antitoxinfabrikation ist, nach Aufsuchen desjenigen Gewebes, das der kräftigste Antitoxinproduzent des Organismus ist, in größter Ausdehnung dasselbe auszunützen. Beim Botulismus wird es z. B. sehr zweckmäßig sein, um eine große Antitoxinausbeute zu bekommen, das subkutane Gewebe durch eine Menge kleinerer Toxininjektionen zu infiltrieren anstatt alles Toxin an einer und derselbe Stelle einzuspritzen, da in jenem Falle das subkutane Gewebe, das sich als ein hervorragender Antitoxinproduzent dokumentiert hat, in größerem Umfange zur Antitoxinbildung angeregt wird. Auf diese Frage werde ich später zurückkommen.

Nachdruck verboten.

Die Wirkung des Aethyläthers auf die hämolytischen und bakteriziden Sera.

[Aus dem Hygienischen Institut der k. Universität in Siena
(Direktor: Prof. A. Sclavo).]

Experimentelle Untersuchungen von Dr. **D. Ottolenghi** und Dr. **N. Mori**.

(Schluß.)

Ob jedoch in der mit Aether extrahierten Substanz, außer diesem Fett, in minimaler Menge noch ein anderer Körper vorhanden ist, können wir nicht mit Sicherheit sagen, wie es uns andererseits nicht möglich ist, anzugeben, welche Bedeutung die Substanz für die Hämolyse hat.

Denn diese Sera werden durch Zusatz der besagten, in etwas Kochsalzlösung emulsionierten Substanz nicht reaktiviert, und ferner, wenn man einem mit Aether versetzten Serum den Aether vollständig entzieht, so daß alles, was von ihm gelöst wurde, im Schoße des Serums bleibt, bleibt doch jede hämolytische Wirkung aus.

Wie bereits erwähnt wurde, beobachtet man bei einigen Sera nach dem Schütteln mit Aether zwischen den beiden gewöhnlichen Schichten, in die sich das Gemisch trennt, eine dritte, Emulsionsschicht. Auch diese prüften wir auf das hämolytische Vermögen, und auch sie besaß keines, ganz wenige Fälle ausgenommen, in denen jedoch die Hämolyse offenbar durch die bedeutende Menge Aether, die in der Emulsion vorhanden war, bedingt wurde; denn sie hörte nach Vertreibung des Aethers gleich auf.

Da diese und andere Versuche zur chemischen Erklärung der vom Aether auf die Hämolyse ausgeübten Wirkung keinen Erfolg hatten, suchten wir zu erforschen, ob diese sich auch mit irgend einer merklichen Modifikation der beiden Bestandteile der Hämolysine: — Ambozeptoren, Komplemente — offenbare.

Zu diesem Zwecke bedienten wir uns folgender Kombinationen von hämolytischen Sera und roten Blutkörperchen:

1) Hundeserum — rote Blutkörperchen des Meerschweinchens;
2) Rinderserum — rote Blutkörperchen des Kaninchens;
3) Kaninchenserum — rote Blutkörperchen des Huhns;
4) Kaninchenserum — rote Blutkörperchen der Taube;
5) Eselserum — rote Blutkörperchen des Kaninchens.

Von der Annahme ausgehend, daß in den mit Aether behandelten Sera Vernichtung entweder der Ambozeptoren oder der Komplemente vorliege, studierten wir zunächst das Verhalten der Sera den roten Blutkörperchen gegenüber bei 0°; denn wenn unter diesen Verhältnissen die roten Blutkörperchen sensibilisiert würden, mußte man schließen, daß die Ambozeptoren intakt waren, wenn dagegen keine Sensibilisation erfolgte, konnte das Fehlen der Hämolyse entweder einer Vernichtung der Ambozeptoren allein oder einer Veränderung beider Bestandteile des Hämolysins beigemessen werden; und so war gleich der Weg für weitere Untersuchungen vorgezeichnet.

Beim Hunde- und Rinderserum befolgten wir, da man im Meerschweinchenserum eine gute Quelle von den Ambozeptoren jener beiden Sera sich anpassenden Komplementen hat, folgendes Verfahren: Nachdem man die zur Hervorrufung einer vollständigen Hämolyse in 1 ccm der gewöhnlichen Blutkörperchenaufschwemmung erforderliche Minimaldose frischen Serums bestimmt hat, bereitet man folgende Gemische:

5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung + 5 Minimaldosen einfachen Serums;

5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung + 5 Minimaldosen mit Aether behandelten Serums (dabei die aufgelöste Aethermenge berücksichtigend, um das richtige Volumen dieses Serums zuzusetzen);

5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung + 5 Minimaldosen mit Aether behandelten Serums, dem aber der Aether mittelst der Pumpe entzogen worden ist.

Durch Zusatz von Kochsalzlösung bringt man die drei Gemische auf das gleiche Volumen von 10 ccm. Ein viertes, zur Kontrolle dienendes Gläschen, enthält einfach Blutkörperchenaufschwemmung.

Die Gemische werden einige Stunden lang in Eis gehalten, dann zentrifugiert und auf das Sediment, das man in 5 ccm Kochsalzlösung suspendiert und in 5 Teile von je 1 ccm teilt, läßt man das reaktivierende Serum einwirken[1]).

Tabelle II.

Serum vom Hunde[2]) — Rote Blutkörperchen des Meerschweinchens.

Aufschwemmung A =	Serum 0,5 ccm	+ 5 % Blutkörp.-Aufschwemmung in 0,85 % NaCl-Lsg.	Auf gleich. Volumen (10 ccm) mit 0,85 % NaCl-Lsg. gebracht
„ B =	6 Std. lg. m. Aether behandeltes Serum 0,55 ccm[3])	+ 5 % „ „ „ 0,85 % „	
„ C =	Serum wie bei B, Aether mittelst der Pumpe entzogen, 0,5 ccm	+ 5 % „ „ „ 0,85 % „	
„ D =	—	+ 5 % „ „ „ 0,85 % „	

Diese Aufschwemmungen bleiben 4 Stunden bei 0°, dann werden sie zentrifugiert; jedes Sediment wird mehrmals mit Kochsalzlösung ausgewaschen, hierauf in 5 ccm derselben Lösung suspendiert. 1 ccm jeder so erhaltenen Flüssigkeit behandelt man, wie folgt:

			Ausfall der Hämolyse
Blutkörp. aus d. Aufschwemmung	A	Auf gl. Volumen (2 ccm) mit 0,85 % NaCl-Lsg. gebr., 2 Std. bei 37° und 20 Std. b. 0° gehalt.	0
„ „ „ „	A + frisches Meerschweinchenserum 0,5 ccm		fast kompl.
„ „ „ „	B		0
„ „ „ „	B + do.		fast kompl.
„ „ „ „	C		0
„ „ „ „	C + do.		fast kompl.
„ „ „ „	D		0
„ „ „ „	D + do.		0

In Tabelle II sind die Resultate zusammengestellt, die wir bei der Kombination: Hundeserum — rote Blutkörperchen des Meerschweinchens erhielten; die bei der Kombination: Rinderserum — rote Blutkörperchen des Kaninchens erhaltenen Resultate sind glänzlich die gleichen.

Bei den anderen Kombinationen: Kaninchenserum — rote Blutkörperchen der Taube oder des Huhns dagegen, wendeten wir kein für die Komplemente fremdartiges Serum an, sondern verfuhren, wie folgt:

Nachdem wir die beiden Gemische: rote Blutkörperchen + mit Aether behandeltes Serum und rote Blutkörperchen

---

1) Wir machten vergleichshalber auch andere Versuche, bei denen wir das komplettierende Serum, statt es den bei 0° mit hämolytischem Serum behandelten und dann gespülten roten Blutkörperchen zuzusetzen, direkt dem Gemisch: Blutkörperchen + zu untersuchendes inaktives Serum beimischten; aber dieses einfachere und schnellere Verfahren hat uns keine so deutlichen Resultate gegeben wie das oben beschriebene; die Reaktivierung machte sich immer nur wenig bemerkbar. Dies hängt vielleicht davon ab, daß in den mit Aether behandelten Sera die Komplemente in Komplementoide umgewandelt worden sind, sich jedoch ohne Hämolyse hervorrufen zu können, mit der komplementophilen Gruppe der Ambozeptoren zu verbinden vermögen, aber verhindernd, daß die durch Zusatz des komplettierenden Serums in das Gemisch eingeführten aktiven Komplemente sich mit ihnen verbinden. Ob jedoch der Aether wirklich nur die Eigenschaft hat, die Komplemente innerhalb des angegebenen Zeitraums in Komplementoide umzuwandeln, oder ob er sie auch vollständig vernichtet, dies läßt sich vielleicht wohl besser dadurch feststellen, daß man den Tieren durch Aether inaktive Sera injiziert und dann untersucht, ob ihr Serum dadurch antikomplementäre Eigenschaften erlangt hat oder nicht.

2) 0,1 ccm Hundeserum = minimale Dosis zur vollständigen Hämolyse von 1 ccm einer 5-proz. Meerschweinchenblutkörperchen-Emulsion in 0,85-proz. Kochsalzlösung.

3) Da das Hundeserum ca. 10 Proz. des Aethers löst, wurde die Menge desselben entprechend erhöht.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

+ einfaches Serum hergestellt und sie genügend lange Zeit in Eis gehalten hatten, zentrifugierten wir sie, gossen die zentrifugierte Flüssigkeit ab und prüften dann an den gut ausgespülten und in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Sedimenten die Wirkung der abgegossenen Flüssigkeit.

Enthielt das mit Aether behandelte Serum Ambozeptoren und Komplemente, so mußte Sensibilisation der Blutkörperchen erfolgen und dann bei Zusatz der eigenen zentrifugierten oder der durch Zentrifugierung des Gemisches: rote Blutkörperchen + einfaches Serum erhaltenen Flüssigkeit Hämolyse stattfinden; fehlten die Komplemente, aber waren die Ambozeptoren vorhanden, so konnte nur Sterilisation der Blutkörperchen erfolgen, erkennbar durch die Hämolyse bei Zusatz der aus dem Gemisch: Blutkörperchen + einfaches Serum zentrifugierten Flüssigkeit; waren nur die Komplemente vorhanden, dann mußte die Sensibilisation der roten Blutkörperchen ausbleiben, aber die zentrifugierte Flüssigkeit mußte beim Sediment des Gemisches: Blutkörperchen + einfaches Serum Hämolyse hervorrufen; waren endlich sowohl Komplemente als Ambozeptoren vernichtet, dann mußte die Sensibilisation der Blutkörperchen ausbleiben und die zentrifugierte Flüssigkeit mußte sich zur Reaktivierung der sensibilisierten roten Blutkörperchen als unfähig erweisen.

Die Versuche, die wir nach dieser Methode unter Vornahme von Kontrollversuchen an den roten Blutkörperchen der Taube ausführten,

Tabelle III.

Serum von Kaninchen. — Rote Blutkörperchen der Taube.

Serum a = Serum von Kaninchen[1]).

Serum b = 3 Stunden lang mit Aether behandeltes Serum von demselben Kaninchen wie Serum a: vor dem Versuch wurde der Aether durch die Erhitzung des Serums auf dem Wasserbad ausgetrieben.

Serum c = Serum von demselben Kaninchen wie Serum a, ohne Aether, gleichzeitig mit Serum b auf dem Wasserbad erhitzt.

Aufschwemmung Serum a + Blutkörp.	d. h.	5 ccm Serum a + 0,25 ccm gewasch. Taubenblutkörp.
„ „ b + „		5 „ „ b + 0,25 „ „ „
„ „ c + „		5 „ „ c + 0,25 „ „ „
„ 0,85 % NaCl-Lsg. + „		0,85 % NaCl-Lsg. + 0,25 „ „ „

Die Röhrchen mit diesen Aufschwemmungen werden $4^1/_2$ Stunden bei 0° gehalten, dann schnell zentrifugiert: so erhält man ein Sediment und einen Abguß; daß gut ausgewaschene Sediment wird in 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und 1 ccm jeder dieser Flüssigkeiten wird mit je 0,5 ccm der verschiedenen Abgüsse versetzt, unter Zusatz von Kochsalzlösung auf gleiches Volumen (2 ccm) gebracht, sodann 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei 0° gehalten.

Blutkörperchen während $4^1/_2$ Stunden bei 0° in Berührung mit	Nachdem man zentrifugiert und ausgewaschen hat, setzt man 0,5 ccm des Abgusses zu, welcher nach Zentrifugierung jeder folgenden Aufschwemmung entsteht			
	Serum a + Blutkörperchen	Serum b + Blutkörperchen	Serum c + Blutkörperchen	0,85 % NaCl-Lsg. + Blutkörperchen
α) Serum a	sehr stark	0	stark	0
β) Serum b	stark	0	stark	0
γ) Serum c	sehr stark	0	stark	0
δ) 0,85-proz. Kochsalzlösung	Spuren	0	minimale Spuren	0

Ausfall der Hämolyse

---

[1]) 1 ccm Serum a = minimale Dosis zur fast vollständigen Hämolyse 0,05 ccm Blutkörperchen oder 1 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung.

gaben, wie aus Tabelle III ersichtlich, ganz deutliche Resultate. Dagegen gaben die an den roten Blutkörperchen des Huhns ausgeführten Versuche ein weniger klares Resultat; weil es bei 0° nicht gelang, in dem Gemisch: rote Blutkörperchen — einfaches Serum, die Ambozeptoren von den Komplementen gut zu trennen; in der zentrifugierten Flüssigkeit war deshalb noch eine bedeutende Dose von den ersteren vorhanden und die Flüssigkeit selbst war auch für die mit keinem Serum behandelten, sondern zur Kontrolle in Kochsalzlösung gehaltenen Blutkörperchen hämolytisch.

Durch ähnliches technisches Verfahren konnten wir endlich feststellen, daß auch das Eselserum, durch Behandlung mit Aether, wegen Inaktivierung der Komplemente, das hämolytische Vermögen verliert.

Da die beschriebenen Versuche dartaten, daß binnen gewisser Zeitgrenzen die Wirkung des Aethers auf die hämolytischen Sera sich darauf beschränkt, deren Komplemente anzugreifen, schien es uns interessant, zu erforschen, ob bei längerer Aetherbehandlung auch die Ambozeptoren beeinträchtigt würden. Von den diesbezüglichen Versuchen, die wir bisher ausschließlich an Rinderserum vornahmen, geben wir ein Beispiel in Tabelle IV, das deutlich dartut, daß dieses Serum, nach 48-stündiger

Tabelle IV.

Rinderserum. — Rote Blutkörperchen von Kaninchen.

Serum a = Rinderserum [1]).

Serum b = 48 Stunden lang mit Aether behandeltes Serum von demselben Rinde wie Serum a.

Serum c = wie Serum b, aber vor dem Versuch wurde der Aether durch Erhitzung des Serums auf dem Wasserbad ausgetrieben.

Serum d = wie Serum a, gleichzeitig mit dem Serum c auf dem Wasserbad erhitzt.

Aufschwemmung Serum a + Blutkörp.	d. h.	2 ccm Serum a + 0,40 ccm Kaninchenblutkörp.	A. gl. Volum. (8 ccm) mit 0,85 % NaCl-Lsg. gebracht
„ „ b + „		2 „ „ b + 0,40 „ „	
„ „ c + „		2 „ „ c + 0,40 „ „	
„ „ d + „		2 „ „ d + 0,40 „ „	
„ 0,85 % NaCl-Lsg. + „		0,85 % NaCl-Lsg. + 0,40 „ „	

Diese Aufschwemmungen werden 3 Stunden bei 0° gehalten, sodann zentrifugiert: so erhält man ein Sediment und einen Abguß. Das gut ausgewaschene Sediment wird in 8 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt: 1 ccm jeder dieser Flüssigkeiten wird je mit 0,5 ccm der verschiedenen Abgüsse versetzt, unter Zusatz von Kochsalzlösung auf gleiches Volumen (2 ccm) gebracht, hierauf 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei 0° gehalten. Der Ausgang des Versuches ist folgender:

Blutkörperchen während 3 Stunden bei 0° in Berührung mit	Nachdem man zentrifugiert und ausgewaschen hat, setzt man 0,5 ccm des Abgusses zu, welcher nach Zentrifugierung jeder folgenden Aufschwemmung entsteht				
	Serum a + Blutkörperchen	Serum b + Blutkörperchen	Serum c + Blutkörperchen	Serum d + Blutkörperchen	0,85 % NaCl-Lsg. + Blutkörperchen
α) Serum a	sehr stark	0	0	sehr stark	0
β) Serum b	sehr stark	Spuren	Spuren	sehr stark	Spuren
γ) Serum c	sehr stark	0	0	sehr stark	0
δ) Serum d	sehr stark	0	0	sehr stark	0
ε) 0,85-proz. Kochsalzlösg.	Spuren	0	0	Spuren	0

Ausfall der Hämolyse

---

[1]) 0,25 ccm Serum a = minimale Dosis zur vollständigen Hämolyse 0,05 ccm Kaninchenblutkörperchen oder 1 ccm einer 5-proz. Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung.

Behandlung mit Aether die roten Blutkörperchen des Kaninchens noch gut zu sensibilisieren vermochte.

Und hier ist es angebracht, zweier bemerkenswerter Eigentümlichkeiten Erwähnung zu tun. Wie schon gesagt wurde, ist eine 24-stündige Behandlung mit Aether erforderlich, um dem Rinderserum das hämolytische Vermögen den roten Blutkörperchen des Kaninchens gegenüber zu entziehen und eine ungefähr 48-stündige, um es gegen die roten Blutkörperchen des Meerschweinchens unwirksam zu machen. Da jedoch nach 48-stündiger Behandlung mit Aether die spezifischen Ambozeptoren für Kaninchenblut noch intakt sind, läßt sich mit aller Wahrscheinlichkeit schließen, daß im Rinderserum zwei verschiedene hämolytische Komplemente vorhanden sind, von denen das eine auf die roten Blutkörperchen des Kaninchens wirkt und durch den Aether leichter angegriffen wird, während das andere, gegen den Aether resistentere, auf die roten Blutkörperchen des Meerschweinchens wirkt.

Die andere Eigentümlichkeit, auf die wir hinweisen möchten, ist folgende. Das Rinderserum hat die Eigenschaft, daß es die roten Blutkörperchen des Kaninchens sehr stark agglutiniert, und eine ähnliche Eigenschaft haben das Kaninchenserum den roten Blutkörperchen der Taube und das Eselserum denen des Kaninchens gegenüber. Nunwohl, während der Aether nach einer gewissen Einwirkungsdauer die hämolytische Wirksamkeit bei diesen Sera aufzuheben vermag, vermag er jedoch innerhalb des gleichen Zeitraumes durchaus nicht das Agglutinierungsvermögen, das sie besitzen, zu modifizieren.

Die beschriebenen Experimente, die dartaten, daß der Aether auf einen der beiden Bestandteile des Hämolysins, auf das Komplement, vorzugsweise wirkt — mag diese Wirkung nun in einer Veränderung seiner toxophoren Gruppe, oder in Herabminderung seiner Affinität für den Ambozeptor, oder in gänzlicher Vernichtung des Komplements, oder in irgend einer anderen, vor der Hand noch nicht präzisierbaren Modifikation bestehen — ließen natürlich die Frage aufkommen, ob der Aether das Vermögen habe, alle Komplemente des Serums anzugreifen, oder ob sich dieses Vermögen nur den hämolytischen Komplementen gegenüber entfalte.

In der That haben Kyes und Sachs[1]) neuerdings behauptet, daß frisches Meerschweinchenserum, wenn man es mit Aether schüttelt, außer der aktivierenden Wirkung für das Cobragift (welche aktivierende Wirkung doch durch Komplement bedingt sein muß), auch die anderen komplettierenden Funktionen verliert.

Zur Lösung der Frage wählten wir, als für unseren Fall geeigneter, Kaninchenserum, dessen Verhalten gegen Aether wir schon studiert hatten und dessen hervortretende komplettierende Eigenschaften für das Hunde-, Rinder- und Eselserum dem Milzbrandbacillus (der vegetativen Form) gegenüber ebenso bekannt sind wie sein bedeutendes bakterizides Vermögen gegen diesen Keim.

Die Versuche nahmen wir an Bruchteilen des gleichen Serums vor, das wir, nachdem es 6 Stunden lang mit Aether behandelt worden war, auf seine Wirksamkeit den roten Blutkörperchen der Taube gegenüber geprüft hatten, mit ganz den gleichen Resultaten, wie die schon mitgeteilten.

---

[1]) Berlin. klin. Wochenschr. 1903. No. 2—4.

Zum Studium des bakteriziden Vermögens bedienten wir uns des technischen Verfahrens, das einer von uns[1] neuerdings als geeignet für solche Zwecke angegeben hat.

Nunwohl, wenn wir Portionen von 1 Stunde lang bei 55° erhitztem Hunde- oder Rinderserum oder von 1 Stunde lang bei 58° erhitztem Eselserum, Portionen, die an und für sich den Milzbrandbacillus nicht zu schädigen vermochten, kleine Mengen von mit Aether behandelten und dann von diesem befreiten Kaninchenserum beimischten, erlangte das betreffende Serum eine fast ebenso starke bakterizide Wirkung gegen den Milzbrandbacillus wie bei Zusatz von gleichen Dosen einfachen Serums (s. Tabelle IV und V).

Tabelle V.

Einsaat = 4240 Kolonieen.

(Die Ausdrücke Serum a, Serum b, Serum c haben dieselbe Bedeutung wie in Tabelle III.)

			nach 3 Stunden bei 37° Kolonieen
1)	Hundeserum 1 ccm		1380 [2]
2)	„ 1 „	+ Serum a 0,05 ccm	1
3)	„ 1 „	+ „ b 0,05 „	25
4)	„ 1 „	+ „ c 0,05 „	0
5)	„ 1 „	+ Aether 0,05 „	1023 [2]
6)	Serum a 0,05 „		6893
7)	„ b 0,05 „		5300
8)	„ c 0,05 „		5325

Mit 0,85-proz. Kochsalzlösung alle Röhrchen auf gleiches Volumen aufgefüllt, zu jedem Röhrchen 3 Tropfen Bouillon zugesetzt.

Tabelle VI.

Einsaat = 12 964 Kolonien.

(Die Ausdrücke Serum a, Serum b, Serum c haben dieselbe Bedeutung wie in Tabelle III.)

			nach 3 Std. bei 37° Kolonieen
1)	1 Stunde lang auf 55° erhitztes Rinderserum 1 ccm		16 399
2)	1 „ „ „ 55° „ „ 1 „	+ Serum b 0,05 ccm	1 099
3)	1 „ „ „ 55° „ „ 1 „	+ „ c 0,05 „	1 188
4)	1 „ „ „ 58° „ Eselserum 1 „		8 993
5)	1 „ „ „ 58° „ „ 1 „	+ „ a 0,05 „	2 645
6)	1 „ „ „ 58° „ „ 1 „	+ „ b 0,05 „	4 202
7)	1 „ „ „ 58° „ „ 1 „	+ „ c 0,05 „	6 406
8)	Serum a 0,05 ccm		14 283
9)	„ b 0,05 „		15 935
10)	„ c 0,05 „		13 539
11)	1 Stunde lang auf 55° erhitztes Rinderserum 1 ccm	+ Aether 0,05 „	15 729
12)	1 „ „ „ 58° „ Eselserum 1 „	+ „ 0,05 „	8 464

Mit 0,85-proz. Kochsalzlösung alle Röhrchen auf gleiches Volumen angefüllt, zu jedem Röhrchen 3 Tropfen Bouillon zugesetzt.

Und diese Wirkung konnte nicht dem Vorhandensein von Spuren von Aether (dessen bakterizides Vermögen bekannt ist) in dem mit Aether behandelten Serum beigemessen werden; denn wenn wir dem Hunde-, Rinder- oder Eselserum Aetherdosen zusetzten, die im Volumen der bei diesen Versuchen von uns angewendeten Menge mit Aether behandelten Serums gleichkamen — also Aethermengen, die sicherlich viel größer waren als die nach Verdampfung im Serum zurückgebliebenen —

---

1) Ottolenghi, D., Ueber das Vorhandensein von Komplement im Fibrin. (Centrabl. f. Bakt. II. Abt. 1904.)

2) Viele Kolonieen sind sehr groß.

erlangten die besagten Sera doch keine ebenso deutliche bakterizide Eigenschaft.

Man ist also zu dem Schlusse gezwungen, daß — wenigstens beim Kaninchenserum und in der angegebenen Zeitdauer der Aethereinwirkung — zwar die hämolytischen Komplemente vernichtet oder in ihrer Wirkung beeinträchtigt wurden, aber keine merkliche Modifikation der bakteriziden Komplemente stattgefunden hat. Also auch auf diesem Wege käme man zu der Annahme, daß zwei verschiedene Klassen von Komplementen bestehen: bakterizide Komplemente, die der Aetherwirkung widerstehen, und hämolytische Komplemente, die empfänglich für dieselbe sind.

Aus der Gesamtheit unserer Untersuchungen, scheint uns nun, lassen sich betreffs der von uns studierten Sera folgende Schlüsse ziehen:

1) Der Aethyläther hat die Eigenschaft, daß er normalen Sera, die normalerweise hämolytisches Vermögen besitzen, dasselbe entzieht.

2) Zur Aufhebung des hämolytischen Vermögens durch den Aethyläther bedarf es einer bestimmten Menge dieses Mittels und einer bestimmten Zeitdauer der Einwirkung.

3) Die Aufhebung des hämolytischen Vermögens ist, aller Wahrscheinlichkeit nach, ausschließlich durch eine Veränderung der hämolytischen Komplemente bedingt.

4) Der Aether übt, wenigstens beim Kaninchenserum und in dem Zeitraum der zur Vernichtung seines hämolytischen Vermögens genügt, keine merkliche Wirkung auf die bakteriziden Komplemente aus.

5) In dem zur Aufhebung des hämolytischen Vermögens erforderlichen Zeitraum entzieht der Aether den Sera nicht die Eigenschaft, die roten Blutkörperchen zu agglutinieren.

Nachdruck verboten.

Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis.

[Aus dem Statens Seruminstitut in Kopenhagen.]

Klinische und experimentelle Untersuchungen[1]).

Von **Axel Jörgensen.**

Mit 44 Figuren.

Einleitung.

In „Festskrift ved Indvielsen af Statens Seruminstitut“, Kopenhagen 1902, habe ich zusammen mit Dr. Th. Madsen die Ergebnisse eines recht umfassenden Studiums der Agglutininschwingungen bei aktiver und passiver Immunisierung gegen Typhus und Cholera dargestellt. Die nachstehenden Untersuchungen bilden zum großen Teil eine Fortsetzung jener Arbeit, und einzelne in derselben angegebene Kurven finden sich im 3. Kapitel des vorliegenden wieder.

---

1) „Svingninger i Blodets agglutinerende Evne ved febris typhoidea.“ Kliniske og experimentelle Undersögelser. [Habilitationsschrift.] Kopenhagen 1904. April.

Bei der Aufstellung dieser Untersuchungen habe ich meinen Stoff in der Weise geordnet, daß ich zuerst die Technik bespreche und zwar besonders die Meßmethode erkläre.

Im 2. Kapitel wird eine Anzahl von Untersuchungen über die Agglutininschwingungen bei Typhuspatienten, und im 3. Kapitel eine Reihe von Versuchen an Tieren mitgeteilt. Es sind einzelne von diesen Versuchen schon früher in der obengenannten Festschrift veröffentlicht worden.

Schließlich werde ich in einem Schlußabschnitt versuchen, die Resultate zusammenzufassen, die sich mir aus dem vorliegenden Material zu ergeben scheinen.

Kapitel I.

Zu den Versuchen wurde ausschließlich die makroskopische Bestimmung benutzt, weil sie vor der mikroskopischen den Vorteil hat, den schnellen und genauen Vergleich zwischen einer größeren Reihe von Sera zu gestatten.

Im folgenden wird eine kurze Beschreibung der angewandten Methoden gegeben, die von Jörgensen und Madsen[1]) früher dargestellt wurde und die sich auf das gleiche Prinzip stützt, wie die von Madsen[2]) benützte kolorimetrische Methode zur Messung von Hämolysin; vorher jedoch sollen die einzelnen benutzten Faktoren erwähnt werden.

Der Typhusbacillus, der bei allen Versuchen benutzt wurde, rührt von einem Stamme her, der mehrere Jahre hindurch auf künstlichem Nährsubstrate gezogen wurde und der nur schwach virulent war, indem 5 ccm 24 Stunden alter Kulturen nur in einzelnen Fällen Kaninchen von 2000 g töteten. Die angewandten Coli- und Cholerakulturen kamen ebenfalls aus alten Laboratoriumsstämmen, waren aber etwas stärker virulent als der benutzte Typhusbacillus.

Die Kulturen waren in einer gewöhnlichen Fleischpeptonbouillon (0,5 Proz. NaCl, 1 Proz. Pepton) angelegt, die schwach alkalisch auf Lackmuspapier reagierte, aber mit Phenolphthalein keine Rotfärbung zeigte.

Schon bei früher veröffentlichten Versuchen wurde ein recht bedeutender Unterschied der Agglutination in verschiedenartigen Bouillons beobachtet, wesentlich wohl in der Stärke, aber auch in anderen Beziehungen (dem Zeitpunkt des Eintretens der Reaktion und in der Farbe, Form und Größe der Flocken). Es wurden deshalb stets so große Mengen auf einmal zubereitet, daß alle die zu vergleichenden Versuche mit derselben Bouillon (aufbewahrt im Dunkeln und auf Eis) ausgeführt werden konnten.

Inzwischen muß bei der Bestimmung der Agglutininschwingungen das Hauptgewicht auf das gegenseitige Verhältnis der einzelnen Sera von demselben Patienten zueinander gelegt werden, und die Bestimmung dieser Sera wurde deshalb gleichzeitig und in der gleichen Kultur ausgeführt.

Zu einem großen Teil der in Kapitel III erwähnten Versuche sind gekochte Kulturen benutzt worden, die sich längere Zeit unverändert halten können. Ein größeres Quantum derselben Bouillon wurde gleichzeitig gesät und die 24 Stunden alte Kultur wurde nach der Verteilung

---

1) Jørgensen og Madsen, The fate of typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation. (Festskrift ved Indvielsen af Statens Seruminstitut. Kopenhagen 1902.)

2) Madsen, Th., Ueber Tetanolysin. (Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXII. 1899.)

in kleinere sterile Gefäße auf 115 ° C erwärmt und dann in Eiskammern bei 2—4 ° C aufbewahrt.

Es wurden stets 24 Stunden alte Kulturen benutzt, und unmittelbar vor den Versuchen wurde $^1/_5$-promill. Formaldehyd zugesetzt, um die Infektion der Kulturen während der Versuche in den offenen Gläsern, sowie das Wachsen der Bacillen, wenn lebende Kulturen benutzt wurden, zu vermeiden.

Die Blutproben wurden bei Patienten durch Stiche in den äußeren Ohrrand und bei Ziegen und Kaninchen von der Hals- bezw. Ohrvene gewonnen. Das Blut wurde in sterilen Gläsern gesammelt und das nach 34—36 Stunden ausgeschiedene Serum in andere sterile Gläser (Widal-Gläser) übergeführt und in der Eiskammer zu gleichzeitiger Untersuchung aufbewahrt.

Da es sich gezeigt hat, daß die Schwingungen im Blute oft mit großer Schnelligkeit vor sich gehen, so daß ihre Stärke sich schon im Laufe weniger Stunden bedeutend verändern kann, wurden die Blutproben an den verschiedenen Tagen, soweit möglich, um dieselbe Stunde genommen.

Die Messung wird auf folgende Weise ausgeführt:

Eine große Anzahl, soweit möglich einheitlicher Reagenzgläser[1]), angebracht in langen Metallständern, werden mit genau der gleichen Menge der betreffenden Kultur gefüllt. Zu einzelnen Versuchen an Ziegen wurden größere Reagenzgläser mit 10 ccm Kultur in jedem benutzt, aber da die bei den oft wiederholten Aderlässen an Menschen und Kaninchen gewonnene Serummenge verhältnismäßig nur gering war, wurden zur Messung dieser Sera ausschließlich mit 1,5 ccm Kultur gefüllte kleine Reagenzgläser (11 × 70 mm), die sogenannten Widal-Gläser, benutzt.

Zu diesen gleichgroßen Kulturmengen wurden die verschiedenen Sera dann so abgemessen, daß man von jedem eine ganze Reihe von Gläsern mit nach einer bestimmten Skala, mit dicht nebeneinander liegenden Dosen abnehmende Serummenge erhielt. Um inzwischen die zum Abmessen von Serum nötige Zeit möglichst zu verkürzen, wurde stets vorher — durch einen orientierenden gröberen Versuch — der Agglutinationswert der einzelnen Sera annäherungsweise bestimmt, so daß man sich im Hauptversuche mit einer verhältnismäßig kleinen Anzahl von Gläsern (8—12) für jede Serumprobe begnügen konnte.

Die Serummenge wurde mittels 1 ccm-Pipetten mit $^1/_{100}$-Einteilung abgemessen und zur Verdünnung wurde steriles 0,85-NaCl benutzt.

Nach der Abmessung wurden Serum und Kultur durch Schütteln sorgfältig gemischt und die Ständer 2 Stunden in Ostwalds Wasserthermostaten (37 ° C) niedergelassen.

Bei den Versuchen, zu denen frische Kulturen angewandt wurden, jedoch nur $1^1/_2$ Stunden, da die Agglutination schon nach dieser Zeit so weit vorgeschritten war, daß sie sich zur Ablesung eignete, wurden nach Ablauf der genannten Zeit die Ständer mit den Gläsern aus dem Thermostaten entfernt und jede Serie von Gläsern enthielt dann eine fortlaufende Skala von Agglutination, von einer fast vollständigen Klärung der Flüssigkeit in den Gläsern mit den größten Serummengen durch eine immer feinere und dichtere Flockung bis zu einer nicht mehr wahrnehmbaren Agglutination in den Gläsern mit den geringsten

---

1) Die Gläser wurden vor jedem Versuche bei 160 ° C trocken sterilisiert, um die geringen Mengen von Agglutinin, die möglicherweise — trotz sorgfältiger Reinigung — in einzelnen zurückgeblieben sein könnten, sicher zu destruieren.

Serummengen. Jedes dieser Gläser mit nicht allzu vorgeschrittener Agglutination läßt sich dann mit genügender Leichtigkeit und Sicherheit durch die Feinheit und Dichtigkeit der Flocken von den Nachbargläsern unterscheiden. Mit einem solchen Glase als Ausgangspunkt ist es bei Vergleichungen leicht, das Glas in jeder der anderen Serien zu bestimmen, das genau den gleichen Grad von Agglutination zeigt.

Zur Kontrolle der Messung wird ein Vergleich mit einem anderen Glase als Ausgangspunkt wiederholt.

Die Messung muß möglichst schnell ausgeführt werden, da die Agglutination im Meßglase nach einiger Zeit infolge des Schüttelns das Aussehen verändert.

Durch die Anordnung der Messung in dieser Weise ermöglicht man die Bestimmung des Verhältnisses der Agglutinationsfähigkeit all der untersuchten Sera.

Um die Werte der verschiedenen Versuche vergleichen zu können, habe ich als Maß ein „Standardserum“, von einer immunisierten Ziege genommen, benutzt. Wo ich bei den Versuchen gekochte Kulturen angewandt habe, hat dies Standardserum unter gleichartigen Umständen fast konstant dieselbe Agglutinationskraft gezeigt. Bei frischen Kulturen variierte der Grad der Agglutination etwas, doch selten mehr als 2—3 Glas in der Skala.

Ein Beispiel dürfte die Methode am besten illustrieren.

Einem frischen Kaninchen wurde am 27. Juni 1903 1 ccm 24 Std. alter Typhusbouillonkultur intraperitoneal injiziert, und man wünschte die Variationen des Agglutiningehaltes im Serum des Tieres in der folgenden Zeit bis zum 18. Juli zu bestimmen. Mit passenden Zwischenräumen wurden Blutproben, im ganzen 11, genommen, und das jedesmal gewonnene Serum wird gleich im Dunkeln auf Eis gesetzt bis zum Versuchstage, dem 22. Juli.

Tabelle 1.

Glas No.		Standard	Serum vom										
			27./6.	30./6.	2./7.	5./7.	6./7.	7./7.	9./7.	11./7.	13./7.	16./7.	18./7.
1	0,15		·	·									
2	0,1		·	·									
3	0,08		·	·									
4	0,06		·	×									
5	0,05		·	·									·
6	0,04		·	⊙								·	·
7	0,035		·	·								·	·
8	0,03	·	·	·							·	·	·
9	0,025	·	·	·							·	·	·
10	0,02	·		·						·	·	·	· >×
11	0,017	·		·	·				·	·	·	·	·
12	0,013	×		·	·				·	·	·	· >×	⊙
13	0,01	·			·	·		·	·	·	·	⊙	·
14	0,008	⊙			·	·	·	·	·	·	· >×	·	·
15	0,006	·			×	·	·	·	·	×	⊙	·	·
16	0,005	·			·	·	·	·	·	·	·	·	·
17	0,004	·			·	·	·	·	×	⊙	·	·	
18	0,0035				⊙	·	·	·	·	·	·		
19	0,003				·	·	·	×	·	·	·		
20	0,0025				·	×	·	·	· >○	·			
21	0,002				·	·	×	·	·	·			
22	0,0017				·	⊙	·	· >○	·				
23	0,0013					·	⊙	·					
24	0.001					·	·	·					
25	0,0008						·						
26	0 (Kontrolle)												

Wie aus vorstehender Wiedergabe des Versuchsprotokolls hervorgeht, wurden zur Messung von Standardserum 10 Gläser und zu jedem der anderen Sera 12 Gläser Kultur benutzt.

Die Zahlen in der ersten Kolonne der Tabelle geben die Skala der Serumdosen, und die Mengen, die jeder Serie zugesetzt wurden, sind durch Punkte vor der Skala angegeben.

Nach 2 Stunden langem Aufenthalt im Wasserthermostaten wurden die Ständer aufgenommen und die Messung begann. Als Maß wurde Glas 7 der Standardserie (Glas 14 der Skala), das in der Tabelle mit ○ bezeichnet ist, benutzt, und das Glas in jeder Serie, welches denselben Grad von Agglutination zeigte, wurde mit dem gleichen Zeichen versehen. Bisweilen wurde die entsprechende Agglutination in keinem der Gläser gefunden, sondern lag zwischen zweien — so am 9. Juli zwischen Glas 9 und 10 (19 und 20 der Skala) — das ist in der Tabelle durch > zwischen den entsprechenden Punkten bezeichnet. Fand man, daß der als Ausgangspunkt benutzte Agglutinationsgrad dem einen oder anderen der beiden Gläser näher lag, so wurde dies — so wie am 7. Juli — durch **>** bezeichnet. In der gleichen Weise wurde der dem Standardglase No. 5 (Mrk ×) entsprechende Agglutinationsgrad für alle Sera bestimmt.

In der Voraussetzung, daß derselbe Agglutinationsgrad der gleichen Menge freien Agglutinins entspricht, hat man in den reziproken Werten der gefundenen Dosen den Agglutiningehalt per 1 ccm des entsprechenden Serums ausgedrückt in willkürlichen Einheiten (die Agglutininmenge in dem zum Vergleiche benutzten Meßglase).

Obenstehendes Beispiel ergibt also folgendes:

Tabelle 2.

Serum vom	0,008 ccm vom Standardserum ○	reziproker Wert	0,013 ccm vom Standardserum ×	reziproker Wert
27./6.	<0,15	0	<0,15	0
30./6.	0,04	25	0,06	16,7
2./7.	0,0035	285,7	0,006	166,7
5./7.	0,0017	588,2	0,0025	400
6./7.	0,0013	769,2	0,002	500
7./7.	0,0019	526	0,003	333,3
9./7.	0,0027	370	0,004	250
11./7.	0,004	250	0,006	166,7
13./7.	0,006	166,7	0,009	111
16./7.	0,01	100	0,015	66.7
18./7.	0,013	76,9	0,022	45,5

Diese gefundenen Werte sind in Figur 1 graphisch dargestellt, wo an der Abscissenachse die Zeit in Tagen und an der Ordinatenachse die Werte (Anzahl der Einheiten) per Kubikcentimeter Serum angemerkt sind.

Die gleiche Methode wurde bei Experimenten mit B. coli und V. cholerae benutzt, doch wurde für V. cholerae jedem Glase Ascites im Verhältnis von 0,3 ccm Ascites zu 10 ccm Kultur zugesetzt.

Um nun die Brauchbarkeit der Methode beurteilen zu können, müssen wir auf einzelne Umstände näher eingehen und sehen, mit welchen Fehlern gearbeitet wird.

Wie früher erwähnt, ergaben die verschiedenen Nährsubstrate einen erkennbaren Unterschied der Reaktionsweise. Ich habe deshalb in einem Einzelversuche einen Vergleich angestellt zwischen der Agglutination in Kulturen in 4 Bouillons (I—IV) und in dem von Courmont angegebenen Substrat (V) (bestehend aus 2 Teilen Pepton, 1 Teil Zucker und 100 Teilen Wasser). Die Bouillons waren ganz genau auf gleiche Weise zubereitet, aber zu verschiedener Zeit und vom Fleische verschiedener Kälber; zu I, III und V wurde Pepton Witte benutzt und zu II und IV bezw. belgisches Pepton und Pepton Chapautôt.

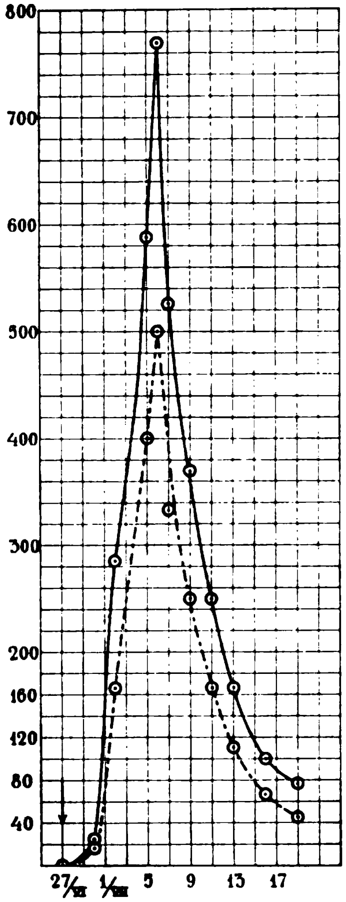


Fig. 1.

Die Agglutination von I—IV ergab eine recht auffallende Verschiedenheit. Während die Flocken in I und III in der ganzen Flüssigkeitssäule recht abgegrenzt und ziemlich gleichartig waren, zeigten sie sich in II und IV loser und unregelmäßiger mit Neigung zu zerstreuter, gröberer Zusammenballung. Ferner wurde beobachtet, daß die Reaktion in II schon von Anfang an im Verhältnis zu den anderen etwas verspätet war. Im großen und ganzen war jedoch ein Vergleich zwischen den Agglutinationen in den verschiedenen Bouillons recht leicht und der graduelle Unterschied zwischen den einzelnen Gläsern einer Serie in derselben Bouillon genügend deutlich, wenn auch die Messung in Bouillon I und III absolut leichter war als in II und IV.

Im Gegensatz hierzu ergab Courmonts Substrat ganz andere Verhältnisse. Die Kultur zeigte hier eine Agglutination, deren Flockung so bedeutend feiner war, daß eine Vergleichung mit der Agglutination in den 4 Bouillons überaus schwierig wurde. Außerdem war der Uebergang von Glas zu Glas in der Serie so fein und der Unterschied so gering, daß ein Erkennen desselben oft ganz unmöglich war.

Daraus ergibt sich also, daß einzelne Bouillons sich besser zur Messung eignen als andere, und daß es auf einem Zufall beruht, ob man die rechte trifft. Wenn deshalb im folgenden einzelne Messungen sich genauer erweisen als andere, so beruht das vielleicht zum Teil auf einem solchen Zufalle.

Die Verschiedenheit des Aussehens der Agglutination in den verschiedenen Bouillons und der so oft beobachtete Unterschied des Stärkegrades macht es inzwischen notwendig, zu untersuchen, ob das relative Verhältnis zwischen den Serumwerten durch ihre Bestimmung in der einen oder anderen Bouillon verändert wird.

Um dieses zu beleuchten, wurden die Agglutinationswerte einer Reihe von Sera gleichzeitig in den 5 obengenannten Nährsubstraten bestimmt.

Tabelle 3.

Serum vom	Substrat I	II	III	IV	V
23./10.	0,002	0,003	0,0019	0,0019	0,0022
26./10.	0,0016	0,0025	0,0014	0,0015	0,0017
29./10.	0,001	0,0014	0,0009	0,001	0,0008
31./10.	0,0006	0,0009	0,00055	0,0006	0,0005
1./11.	0,0005	0,00065	0,00043	0,00047	0,00035
2./11.	0,00065	0,001	0,0006	0,0007	0,0005
4./11.	0,00075	0,0011	0,00065	0,00075	0,00065
7./11.	0,0008	0,0012	0,0007	0,0008	0,00075

In den obenerwähnten Versuchen betrug die größte gegenseitige Verschiedenheit zwischen den Reihen I—IV 9 Proz. und in der Hälfte der Fälle unter 3,1 Proz. Folglich muß das Verhältnis zwischen den Werten dasselbe sein in den 4 Reihen oder mit anderen Worten, die Form der Kurve ist die gleiche, ob sie nun in der einen oder anderen der 4 Bouillons bestimmt wurde.

Vollständig hiervon abweichende Verhältnisse ergab Courmonts Substrat (V), aber vielleicht liegt das daran, daß die Agglutination in diesem Nährsubstrat ein etwas anderer Prozeß ist und sich überhaupt mit der Agglutination in Fleischpeptonbouillon nicht vergleichen läßt.

Einen entsprechenden Fehler fand ich bei einer Doppelbestimmung (a und b) in derselben Bouillonkultur, indem der größte Fehler unter 7 Proz. lag (s. Tabelle 4).

Tabelle 4.

Serum vom	a	b	Dieselbe Kultur auf 115° C erwärmt
23./10.	0,0025	0,0025	0,015
26./10.	0,002	0,0019	0,012
29./10.	0,00115	0,0012	0,0065
31./10.	0,0008	0,00075	0.0045
1./11.	0.000575	0,0006	0,0035
2./11.	0,000825	0,000825	0,00475
4./11.	0,0009	0,0009	0,005
7./11.	0,001	0,00095	0,0055

Durch die momentane Erwärmung auf 115° einer Typhuskultur wird ihre Agglutinationsfähigkeit sehr bedeutend geschwächt. Die Agglutination tritt langsam ein und die Flockung ist feiner. Es ist deshalb schwierig, die Agglutination in der erwärmten Kultur mit der in der lebenden Kultur zu vergleichen, wenn auch nicht so sehr wie bei der Kultur in Courmonts Substrat. Ich habe indessen versucht, diese Schwierigkeit zu umgehen, indem ich den Stärkegrad meines Standardserums sowohl in der frischen als in der gekochten Kultur bestimmte. Nach dem Wasserbade vergleicht man die beiden Standardseri und sucht die beiden Gläser — eins aus jeder Reihe — in denen der Agglutinationsgrad so genau als möglich der gleiche ist. Das Standardglas von frischer Kultur wird dann als Maß bei Ablesungen von Sera in frischer Kultur, das von gekochter Kultur zu Seris in gekochter Kultur benutzt.

Auf diese Weise habe ich einen Vergleich zwischen der Bestimmung einer Kurve in einer frischen Kultur und in der gleichen auf 115° C erwärmten Kultur (s. Tabelle 4) angestellt und gefunden, daß der Fehler in diesem Versuche unter 6 Proz. lag. Aus der Tabelle geht gleichzeitig hervor, daß der Stärkegrad der Agglutination in der gekochten Kultur ca. $^1/_5$ schwächer war als in der frischen. Inzwischen muß ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht werden, daß nicht alle Fälle Uebereinstimmung der Resultate zwischen der Anwendung von frischer und von gekochter Kultur aufweisen. Unter gewissen Umständen können die Abweichungen recht bedeutend werden. Es muß daher als richtig betrachtet werden, zu Versuchen, deren Resultate verglichen werden sollen, stets, soweit möglich, die gleiche Kultur anzuwenden, und nur mit Vorbehalt die erzielten Ergebnisse auf Verhältnisse in anderen Kulturen zu übertragen.

Bei der Abmessung von Serum in einer Serie von Gläsern kann die Menge der hinzugefügten Flüssigkeit von 0,06 ccm bis zu 0,5 ccm variieren. Da nun die Kulturmenge in jedem Glase nur 1,5 ccm beträgt, dürfte es das Richtige sein, die Flüssigkeitsmenge durch NaCl-Auflösung stets auf im ganzen 2 ccm abzurunden. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutination des Pestbacillus.

[Aus dem Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von Dr. **G. Shibayama,** Abteilungsvorsteher im Institut.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die verschiedenen Stämme einer Bakterienart von demselben Immunserum nicht immer bei derselben Verdünnung agglutiniert werden. R. Pfeiffer und Kolle haben gezeigt, daß ein virulenter Choleravibrio von Choleraziegenserum bei der Verdünnung von 1 : 1000, ein avirulenter aber bei 1 : 100000 agglutiniert wird. In einer umfangreichen Arbeit von Kolle, Gotschlich (1) etc. über Choleravibrionen sagen die Autoren: „Unterschiede in der Agglutinabilität der Kulturen spielen dabei keine Rolle, da nur so hochwertiges Serum zur Differenzierung herangezogen werden kann, welches auch die am schwersten agglutinierbaren Kulturen rasch (innerhalb 1 Stunde) zur Agglutination bringt. Gruppenreaktionen scheinen bei den vibrionenagglutinierenden Serumproben nicht vorzukommen etc.“ Aber aus unserer genaueren Betrachtung von Kolles Untersuchungen können wir schließen, daß ein Cholerapferdeserum (Tabelle IV in Kolles Arbeit) einige Vibrionen bei $^1/_{1000}$ und andere bei $^1/_{20000}$ und ein Cholerakaninchenserum (Tabelle VI) einerseits in der Verdünnung 1 : 2000 und andererseits bei 1 : 10000 oder 1 : 20000 agglutiniert. Also ist die Schwankungsbreite in der Agglutinabilität ziemlich groß. Unseres Erachtens ist dieses Verhalten nicht zu vernachlässigen.

Bei Untersuchung der Pestratten, welche im Mai dieses Jahres in einem Stadtviertel in Tokio gefunden wurden, habe ich erfahren, daß jede Pestbacillenkultur aus zwei Pestratten von einem unserer Pestpferdeserum verschieden agglutiniert wurde. Die eine Kultur wurde bei der Verdünnung von 1 : 50 und die andere bei 1 : 100 agglutiniert. Daraus glaubte ich schließen zu können, daß die verschiedenen Peststämme gegen dasselbe Immunserum verschiedene Agglutinabilität zeigen können. Daraufhin habe ich die Agglutination von über dreißig Pestkulturen unseres Pestlaboratoriums geprüft. Die Herkunft der geprüften Pestkulturen ist wie folgt:

Tabelle I.

Verzeichnis und Herkunft der geprüften Kulturen.

No.	Herkunft der Kulturen
1	aus dem Pestkranken in Kobe, 1899
2	„ „ „ „ Wakayama, 1900
3	„ „ „ „ Osaka „
4	„ „ „ „ „ „
5	„ „ „ „ „ „
6	„ Pestkatze (Spontaninfektion!) in Wakayama, 1900
7	„ dem Pestkranken des Dampfers „Hiroshima-Maru“, 1900
8	„ „ „ in Kobe, 1900
10	„ „ „ „ „ „
11	„ Pestratte „ „ 1902
13	„ dem Pestkranken „ Nagasaki, 1902
14	„ „ „ „ „ „
15	„ „ „ „ „ „
16	„ „ „ „ „ „
17	„ „ „ „ Hongkong, 1902
18	„ „ „ „ Yokohama, „

No.	Herkunft der Kulturen
19	aus dem Pestkranken in Yokohama, 1902
20	„ „ „ „ „ „
21	„ „ „ „ „ „
22	„ „ „ „ „ „
23	„ „ „ „ „ „
24	„ „ „ „ „ „
25	„ Pestkatze (Spontaninfektion!) in Yokohama, 1902
26	„ dem Pestkranken in Tokio, 1902
29	„ „ „ „ „ „
30	„ „ „ „ „ „
34	„ Pestratte in Tokio, 1902
35	„ „ „ „ „
36	„ „ „ „ „
38	„ „ „ „ „
39	„ dem Pestkranken des Dampfers „Kagoshima-Maru“, 1903

Tabelle II.

Agglutination mit Pestpferdeserum A.

NB. Pestpferdeserum A ist das Gemisch von Sera der hoch gegen Pest immunisierten Pferde No. 10, 15, 13, 19 und 27; alle Pferde sind mit Kultur No. 1 immunisiert.

Kultur in 32° C No.	Serumverdünnung						
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:300	1:500	1:600
1	++	·	—	—	—	—	—
2	+	±	—	—	—	—	—
3	+	±	—	—	—	—	—
4	++	++	+	+	±	—	—
5	++	+	±	—	—	—	—
6	++	++	++	++	+	+	±
7	++	++	++	++	+	+	+
8	++	++	++	+	+	+	±
10	++	±	—	—	—	—	—
11	++	++	+	—	—	—	—
13	++	++	±	—	—	—	—
14	++	+	—	—	—	—	—
15	++	++	—	—	—	—	—
16	++	++	—	—	—	—	—
17	++	+	—	—	—	—	—
18	++	++	—	—	—	—	—
19	++	+	—	—	—	—	—
20	++	±	—	—	—	—	—
21	++	+	+	—	—	—	—
22	++	++	+	±	—	—	—
23	++	++	++	++	+	+	+
24	++	++	++	++	+	+	+
25	++	++	±	—	—	—	—
27	++	++	+	±	—	—	—
29	++	++	+	+	—	—	—
30	++	+	—	—	—	—	—
31	++	++	+	±	—	—	—
34	++	++	±	—	—	—	—
35	++	++	+	—	—	—	—
36	++	+	—	—	—	—	—
38	++	+	—	—	—	—	—
39	++	+	—	—	—	—	—

Die Reaktion wurde nach 24-stündigem Verweilen im Brütschrank makroskopisch beobachtet. ++ totale Klärung der Flüssigkeit; + kleine Flockenbildung; ± teilweise Flockenbildung; — totale Trübung der Aufschwemmung.

Tabelle III.

Agglutination mit Pestpferdeserum B.

NB. Pestpferdeserum B ist das Gemisch von Sera der hochimmunisierten Pferde No. 11, 17, 20, 21 und 28; alle fünf Pferde wurden mit Pestkultur No. 1 behandelt.

Kultur in 32° C No.	Serumverdünnung						
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:300	1:500	1:600
1	++	+	—	—	—	—	—
2	+	±	—	—	—	—	—
3	+	±	—	—	—	—	—
4	+	±	—	—	—	—	—
5	++	±	—	—	—	—	—
6	++	++	++	++	+	+	+
7	++	++	++	++	+	+	+
8	++	++	++	++	+	+	±
10	++	±	—	—	—	—	—
11	++	±	—	—	—	—	—
13	++	+	±	—	—	—	—
14	++	+	±	—	—	—	—
15	++	±	—	—	—	—	—
16	++	+	—	—	—	—	—
17	++	+	+	±	—	—	—
18	++	±	—	—	—	—	—
19	++	±	—	—	—	—	—
20	++	+	—	—	—	—	—
21	++	—	—	—	—	—	—
22	++	+	+	±	—	—	—
23	+	++	++	++	+	+	+
24	++	++	++	++	+	+	+
25	++	+	—	—	—	—	—
26	+	—	—	—	—	—	—
29	++	+	+	—	—	—	—
30	++	+	+	—	—	—	—
31	++	+	±	—	—	—	—
34	++	++	+	+	±	—	—
36	++	+	—	—	—	—	—
38	++	±	—	—	—	—	—
39	++	+	—	—	—	—	—

Aus diesen Prüfungen habe ich festgestellt, daß die Kulturen bei 32° C durch dasselbe Immunserum verschieden stark (1:25—1:600) agglutiniert wurden.

Paltauf hat schon gezeigt, daß die Agglutination eines Pestpferdeserums bei verschiedenen Stämmen nicht gleichmäßig auftrat, so daß sie bei einem Stamm (**Kitasato**) viel früher und stärker hervortrat, als bei einem anderen (**Roux**-Stamm). Nach **Klein** (2) zeigte aber das Blut geimpfter Meerschweinchen ungefähr 14 Tage nach der Impfung eine Agglutinationswirkung in der Verdünnung von 1:20 oder 1:30 in 15 Minuten. Verschiedene Stämme aus Indien, vom Kap, Südamerika, Alexandria, Smyrna und Hongkong agglutinierten alle ganz gleich. **Markl** (3) fand auch, daß Sera von zwei mit abgetötetem Pestagar oder Pestbouillonkulturen immunisierten Pferden noch in Verdünnung 1:100 binnen $^1/_2$—1 Stunde bei Brüttemperatur alle untersuchten sechs Peststämme (Pg, Pm, Po, **Roux**, **Kitasato** und London) agglutinierten, Pariser-Serum und Messina-Serum aber in 1:2 innerhalb 2 Stunden bei Brüttemperatur keinen von den untersuchten sechs Stämmen. Nach **Aujeszky** und **Wenhardt** (4) wurde eine von einem Glasgower Pestfall stammende virulente Kultur durch ein aus dem Pariser Institut Pasteur bezogenes Serum bei 1:50 stark, bei 1:100 jedoch nur kaum agglutiniert. Kolle und Martini (5) berichten, daß das Pariser Trockenserum eine ganze Anzahl Stämme verschiedener Virulenz und verschiedener Herkunft in Verdünnung von 1:1000 bis 1:6000, je nach Virulenz, agglutiniert. Ihre Meinung ist, daß je weniger virulent eine Kultur ist, desto stärker sie von einem spezifisch agglutinierenden Serum agglutiniert wird, wie Pfeiffer und Kolle bei Typhus und Cholera bestätigt hatten.

Dies differente Verhalten bei der Agglutination der Pestkulturen in 32° C erklärt sich nach meiner Beobachtung daraus, daß alle schwer agglutinierbaren Kulturen stark fadenziehend nnd zähe sind. Die differente Agglutinabilität dürfte also von differenter Zähigkeit der Kultur abhängen. Weitere Untersuchungen stimmen mit dieser Erklärung ganz überein.

Kulturen No. 3 und 21 bei 32° C, welche schwach (1:50) agglutiniert werden, und Kulturen No. 23 und 24 bei 32° C, welche stärker (1:600) agglutiniert werden, habe ich auf Agar geimpft und bei 37° C aufgestellt. Nach 48 Stunden sind alle Kulturen stark zäh und fadenziehend und man findet darin kaum Unterschiede der Agglutinabilität, welche bei Kulturen von 32° C stark hervortreten. Die Agglutinationsprobe mit diesen zähen Kulturen fällt bei Verdünnung 1:100 durchweg negativ aus (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Kultur in 37° C No.	Serumverdünnung			
	1:50	1:100	1:200	1:300
3	+	—	—	—
21	+	—	—	—
23	+	—	—	—
24	+	—	—	—

Wenn man nun aus diesen vier Kulturen wieder auf Agar impft und sie bei 32° aufstellt, so wachsen die Kulturen No. 3 und 21 zäh und fadenziehend, während die No. 23 und 24 ganz wenig fadenziehend sind. Bei Anwendung dieser verschieden zähen Kulturen fällt die Agglutination auch verschieden aus, wie Tabelle II und III zeigen.

Dagegen haben die 72-stündigen Kulturen im Eisschrank (Temperatur 5—8° C) kaum zähe und fadenziehende Beschaffenheit, welche bei Brüttemperatur stark ausgeprägt ist. Die Agglutinabilität mit diesen Eisschrankkulturen war so überraschend, daß fast alle Kulturen bei Serumverdünnung von 1:1000 oder 1:2000 prompt agglutiniert wurden (s. Tabelle V).

Aus den oben ausgeführten Untersuchungen ist es ohne weiteres zu erklären, daß die leichte oder schwere Agglutinabilität der Pestbacillen mit der Beschaffenheit der Kultur verbunden ist. Die zähe und fadenziehende Kultur ist die schwer agglutinierbare, die leicht agglutinierbare dagegen ist keine zähe und fadenziehende Kultur. Das erhellt auch aus anderen Versuchen. Wenn man eine zähe, fadenziehende resp. schwer agglutinierbare (1:50) Kultur mehrmals durch Schütteln in physiologischer Kochsalzlösung (0,8 Proz.) und durch Zentrifugieren von Schleim befreit, so wird sie bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Tabelle V.

Agglutination der Eisschrankkulturen mit Pestpferdeserum B.

Eisschrank-kulturen No.	Serumverdünnung				
	1:100	1:300	1:500	1:1000	1:2000
1	++	++	++	+	—
2	++	++	++	+	—
3	++	++	++	+	±
4	++	++	++	+	+
5	++	++	++	+	+
6	++	++	++	+	—
7	++	++	++	+	+
8	++	++	+	—	—
10	++	++	+	—	—
11	++	++	++	+	+
13	++	++	++	+	+
14	++	++	++	+	+
15	++	++	++	++	+
16	++	++	++	+	—
17	++	++	++	+	—
18	++	++	++	+	+
19	++	++	++	+	—
20	++	++	++	++	—
21	++	++	++	++	—
23	++	++	++	++	—
24	++	++	++	++	—
25	++	++	++	+	+
26	++	++	++	++	+
35	++	++	++	+	+
38	++	++	+	+	+

Verdünnung von 1 : 200 deutlich agglutiniert. Wie schon bekannt, hat die Pestbacillenkultur eine zähe, schleimige und fadenziehende Beschaffenheit, welche man als ein spezifisches Merkmal der Pestkultur ansieht. Die österreichische Pestkommission (6) beschreibt: „Bei Strichkultur auf Agar entwickelt sich bei 30° C nach 36—48 Stunden entlang des Impfstriches ein zarter, grauweißer Rasen, der beim Berühren mit dem Platindrahte eine zähe, schleimige Beschaffenheit verrät. Die Kultur haftet nicht sehr stark an dem Substrat. Bei dem Versuche, sie abzuheben, zieht sich die Pestbacillensubstanz in mehr oder weniger lange Fäden aus.“ Kolle (7) sagt: „Schon makroskopisch zeigten die Kulturen untereinander gewisse Unterschiede, die sich nicht nur in einem mehr oder weniger üppigen Wachstum, sondern auch darin zeigten, daß einige der Kulturen auf Agar fadenziehend waren, während andere diese Eigenschaften nicht erkennen ließen. Die Eigenschaft der Kulturen, fadenziehend zu sein, hängt ja offenbar mit der schleimigen Hülle zusammen, welche die einzelnen Bakterien umgibt. Worin indessen die Ursache zu suchen war, weshalb einige Kulturen diese schleimige Beschaffenheit zeigten, während sie anderen fehlte, das konnte nicht ermittelt werden. Nur das konnte festgestellt werden, daß die Ursache nicht in der Beschaffenheit des Nährbodens zu suchen war; denn die fadenziehenden Kulturen behielten konstant diese Beschaffenheit auf den verschiedensten Nährböden bei, und andererseits zeigten die nicht fadenziehenden Kulturen die schleimige Beschaffenheit nicht.“ Wenn nach unserer Beobachtung auch die Reaktion des Nährbodens einen gewissen Einfluß auf die Beschaffenheit der Kultur ausübt, so daß sie bei alkalischer Reaktion sehr feucht, fadenziehend sind, aber leicht in Wasser sich gleichmäßig verteilen, während bei sauerer sie wenig feucht sind und die Aufschwemmung im Wasser infolge der Zähigkeit schwerer geschieht[1]), behalten die Kulturen bei 32° C doch ihre Beschaffenheit bei. Aber bei den Kulturen in Brüt- und Eisschranktemperatur können wir eine mehr gleichartige Beschaffenheit konstatieren. Alle Kulturen bei 37° C haben eine zähe und fadenziehende Beschaffenheit, während die bei Eisschranktemperatur gehaltenen nicht schleimige, fadenziehende und ganz leicht gleichmäßig im Wasser verteilbare Eigenschaften zeigen. Wenn man aus der nicht schleimigen Kultur bei 32° C auf Agar überimpft und bei 37° C kultiviert, so wächst ein schleimiger, fadenziehender Rasen. Impft man aus einer schleimigen, fadenziehenden Kultur bei 32° C auf Agar über und kultiviert im Eisschrank, so wächst ein nicht schleimiger, nicht fadenziehender Rasen. Aus diesen Tatsachen können wir schließen, daß die zähe, schleimige und fadenziehende Beschaffenheit der Pestbacillenkultur keine konstante ist, sondern von der Wachstumstemperatur abhängig ist, und zwar nur bei gewissen Temperaturen, z. B. 32° C, auftritt. Ich möchte also sagen, eine zähe und schleimige Beschaffenheit der Pestkultur hängt von der Wachstumstemperatur und die schwere oder leichte Agglutinabilität von der Beschaffenheit der Kultur ab.

Wie ich schon oben erwähnt habe, behaupten Kolle und Martini, daß die Agglutinabilität von der Virulenz abhängig ist. Darüber habe ich auch einige Versuche gemacht. Wenn die Behauptung von Kolle richtig ist, müssen die Kulturen No. 3 und 21 virulenter sein als die Kulturen No. 23 und 24, da die ersteren schwächer agglutiniert werden. Ich habe die oben genannten 4 Stämme bei 32° C 48 Stunden lang kultiviert und an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen ihre Virulenz geprüft. Unter den Methoden der Virulenzprüfung von Pestkulturen ist die kutane Infektion der Meerschweinchen, welche von Weichselbaum, Albrecht und Ghon zuerst angegeben wurde, die vorzüglichste. Nasenschleimhaut- und Augenbindehautinfektion der Ratten erfolgt nur bei Verwendung ganz hochvirulenter Kulturen. Daß Mäuse sehr ungleich empfänglich für Pest sind, wissen wir durch alltägliche Erfahrung. Bei Ratten habe ich Pestkulturaufschwemmungen sorgsam auf die Augenbindehaut gebracht, so daß keinerlei Verletzung erfolgte; aber alle Tiere blieben ganz gesund. Bei Mäusen habe ich sehr kleine Mengen ($^1/_{1\,000\,000}$ und $^1/_{500\,000}$ Oese) aller Kulturen intraperitoneal geimpft. Kolonieenzahl auf Gelatineplatten von $^1/_{500\,000}$ Oese der 4 Kulturen war ca. wie folgt:

No. 3	832	zähe Kulturen
No. 21	820	
No. 23	640	nicht zähe Kulturen
No. 24	574	

Die Mäuse sind 2—10 Tage nach der Infektion zu Grunde gegangen; aber wir können den Virulenzgrad der Kulturen davon nicht wissen, da die Zeitdauer bis zum Tode mit der Bacillenmenge in keinem Verhältnis steht, wie Tabelle VI zeigt.

---

[1]) Bei der alkalischen Reaktion wird die schleimige Hülle der Pestbacillen mehr oder weniger aufgelöst und infolgedessen fadenziehender und leichter im Wasser verteilbar.

Tabelle VI.

Mäuse	Körpergewicht	Kultur	Menge	Resultat
1	11 g	No. 3	$^1/_{1\,000\,000}$	Tod nach 7 Tagen
2	11 „	„ 21	do.	„ „ 10 „
3	11 „	„ 23	do.	„ „ 6 „
4	11 „	„ 24	do.	„ „ 6 „
5	11 „	„ 3	$^1/_{500\,000}$	„ „ 2 „
6	11 „	„ 21	do.	„ „ 8 „
7	11 „	„ 23	do.	„ „ 4 „
8	11 „	„ 24	do.	„ „ 10 „

Bei kutaner Impfung der Meerschweinchen konnte ich die Virulenz der 4 Kulturen beinahe erkennen. Eine Oese Pestkultur wurde in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 2 große Oesen von dieser Aufschwemmung wurden auf der mit Gewalt rasierten Bauchhaut der Meerschweinchen (je 250 g schwer) verrieben. Bei den Tieren, welche mit Kulturen No. 3 und 23 infiziert wurden, war die Anschwellung und Rötung der Impfstelle und Bubonen der Inguinaldrüsen schon 2 Tage nach der Impfung sehr deutlich und die Infiltration nahm mit der Zeit zu, während bei den mit Kulturen No. 21 und 24 geimpften Tieren keine Infektion eintrat. Weiter habe ich die Virulenz der Eisschrankkulturen, welche mit einem Serum gleich stark agglutiniert werden, geprüft, um zu wissen, ob unter den gleich agglutinierbaren Kulturen ein Virulenzunterschied vorhanden ist oder nicht. Dazu benutzte ich auch die Kulturen No. 3, 21, 23 und 24, welche 3 Tage lang im Eisschrank kultiviert wurden, und Meerschweinchen als Versuchstiere. Bei diesen Fällen erfolgte die Infektion auch nur bei den mit Kulturen No. 3 und 23 behandelten Tieren, während sich bei Tieren, welche mit Kulturen No. 21 und 24 behandelt wurden, gar keine Erkrankung zeigte.

Aus den oben angeführten Versuchen können wir schließen, *daß die Agglutinabilität der Pestkulturen keinen Zusammenhang mit ihrer Virulenz hat, sondern die Beschaffenheit der Kulturen die Hauptrolle spielt.* Wenn Kolle bei avirulenter Kultur stärkere Agglutinabilität gefunden hatte, so wird die Kultur gerade nicht fadenziehend gewesen sein, d. h. in Bezug auf Agglutinabilität der Pestkultur spielt die Virulenz keine Rolle, sondern nur die Beschaffenheit der Kultur. Bei dieser Gelegenheit möchte ich auch *die Agglutinierbarkeit der Cholerakulturen* berühren. Kolle (8) meint, daß es unter echten Cholerastämmen von gleicher Virulenz erhebliche Unterschiede in der Agglutinierbarkeit und umgekehrt bei frischen avirulenten Kulturen den gleichen Agglutinationstiter wie bei virulenten gibt. An diese neue Beobachtung knüpft er die Bemerkung: „Worauf die Unterschiede in der Agglutinierbarkeit beruhen, ist zur Zeit noch nicht aufgeklärt.“ Ja, nach meiner Ansicht ist *die Agglutinierbarkeit der Cholerakulturen auch von der Beschaffenheit der Kultur abhängig.* Es ist schon eine bekannte Tatsache, daß alte in den Laboratorien auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete Cholerakulturen sich häufig schon in physiologischer Kochsalzlösung in feinkörniger, sandiger Form zusammenballen und nie gleichmäßig sich in der Flüssigkeit verteilen. Solche Kulturen sind in der Konsistenz ganz anders als gewöhnliche Cholerakulturen und ähneln einer Diphtheriekultur auf Glycerinagar. Aus diesen Gründen sind solche Kulturen naturgemäß für die Agglutinationsprobe unbrauchbar. Einmal fand ich bei einer alten avirulenten Cholerakultur, welche 2 Jahre lang ohne Tierpassage nur auf Nähragar fortgezüchtet und bei Zimmertemperatur gestanden hatte, eine ganz schleimige Beschaffenheit. Diese schleimige Kultur wurde mit Testserum (1 : 5000 Titer) nur bei Verdünnung von 1 : 500 agglutiniert. Aus solchen Gründen bin ich der Meinung, daß die Agglutinabilität der Cholerakultur auch von der Beschaffenheit und zwar von der schleimigen Konsistenz abhängig ist.

Cole (9) hat neulich die Beobachtung bei Typhusbacillen gemacht, daß die größere Agglutinationsfähigkeit mit größerer Bindekraft für Agglutinine und die geringere Agglutinationsfähigkeit mit der Verminderung in der Anzahl der Rezeptoren verbunden sind. Ich habe weiter dieses Verhältnis bei Pest untersucht. Zu diesem Zwecke wurden stark agglutinierbare Kulturen, No. 7 und 23, bei 32° C in 1 : 100 verdünntem Serum aufgeschwemmt und im Brütschrank gehalten. Nach 24 Stunden zeigten alle Röhrchen totale Agglutination. Der Flüssigkeit, welche durch Zentrifugieren vom Niederschlag getrennt wurde, wurden die stark agglutinierenden Kulturen No. 7 und 23 bei 32° C wieder zugefügt. Die Agglutination kam nach 24 Stunden im Brütschranke ganz schwach zu stande. Mit ganz derselben Methode wurden die schwach agglutinierenden Kulturen No. 1 und 2 bei 32° C behandelt, welche nach 24 Stunden im Brütschranke keine Agglutination zeigten. Durch Zentrifugieren habe ich das klare Zentrifugat gewonnen und dazu stark agglutinierbare Kulturen, No. 7 und 23, bei 32° C zugesetzt. In diesem Falle war die Agglutination auch ganz schwach oder negativ. Weiter habe ich dieselbe Probe mit schwach agglutinierenden (No. 3 und 21) und stark agglutinierenden Kulturen (No. 23 und 24) gemacht. Wenn die stark agglutinierenden Kulturen stärkere agglutino-haptophore Gruppen haben, müssen die Kulturen bei Eisschranktemperatur stärker als die bei 37° C die Agglutinine des Serums absorbieren; infolgedessen müssen die Agglutininmengen im Zentrifugate untereinander einen großen Unterschied zeigen. Aber bei meinen Versuchen fand ich kaum merkbare Unterschiede. Der Gang des Versuches ist wie folgt.

Man schwemmt die oben genannten 4 Kulturen bei Eisschrank- und Brüttemperatur in 1 : 100 verdünntem Pestserum auf. Nach 24-stündigem Verweilen im Thermostaten zeigten die Kulturaufschwemmungen bei Eisschranktemperatur sehr deutliche Agglutination, während sie bei Brüttemperaturkulturen ganz negativ blieb. Zum Zentrifugate der beiden Versuche fügte ich die stark agglutinierbaren Kulturen bei Eisschranktemperatur zu. Die Ergebnisse sind aus folgenden Tabellen zu ersehen.

Weiter wurde es versucht, ob durch Injektion einer der leicht agglutinierbaren Kulturen bei Kaninchen sich ein Serum herstellen läßt, welches eine größere Agglutinationskraft hat als ein solches Serum, das mittels schwerer agglutinierbaren Kulturen gewonnen ist. Es wurden 4 Kaninchen durch 2-malige subkutane Impfungen (im ganzen 6 Oesen) der auf 60° C $^1/_2$ Stunde lang erhitzten Pestagarkulturen No. 3 und

Tabelle VII.

Zentrifugate der Kulturen bei 37° C.

Zentrifugierung mit Kulturen	Neu zugefügte Kulturen			
	No. 3	No. 21	No. 23	No. 24
No. 3	—	—	—	—
„ 21	±	±	±	±
„ 23	—	±	+	+
„ 24	+	+	+	+

Tabelle VIII.
Zentrifugate der Kulturen bei Eisschranktemperatur.

Zentrifugierung mit Kulturen	Neu zugefügte Kulturen			
	No. 3	No. 21	No. 23	No. 24
No. 3	—	±	±	±
„ 21	—	±	±	+
„ 23	—	±	±	+
„ 24	—	±	±	+

24 bei Brüt- und Eisschranktemperatur behandelt. 10 Tage nach der letzten Impfung wurden die Sera auf Agglutinationskraft mit Eisschrankkulturen geprüft. In der Agglutinationskraft dieser Kaninchensera konnte ich keine merkbare Differenz finden, da die Eisschrankkulturen durch alle Sera bei der Verdünnung 1 : 1000 deutlich, bei 1 : 2000 aber nicht agglutiniert wurden. Aus diesem Versuche darf man nicht schließen, daß die leicht agglutinierbaren Kulturen mehrere haptophore Gruppen besitzen; wenngleich es zwischen Agglutinierbarkeit der Kulturen bei Brüt- und Eisschranktemperatur eine große Differenz (Schwankung zwischen 1:50 bis 1:2000) gibt, so können wir doch zwischen beiden Kulturen nicht merkbare Differenzen der Absorption der Agglutinine und der Produktion der Agglutinine im Tierkörper nachweisen.

Schlußsätze.

1) Die Pestkulturen bei 32° C werden nicht gleichmäßig durch ein und dasselbe Pestpferdeserum agglutiniert; die Agglutinabilität schwankt zwischen 1 : 25 und 1 : 600 bei meinem Versuche.

2) Die schwer agglutinierbaren (1 : 50) Pestkulturen haben eine zähe und schleimige Beschaffenheit, die leicht agglutinierbaren (1 : 600) sind dagegen wenig schleimig.

3) Die wenig schleimige und zugleich leicht agglutinierbare (1 : 600) Kultur bei 32° C wir schleimig und schwer agglutinierbar (1 : 50), wenn sie bei Brüttemperatur kultiviert wird.

4) Alle schleimigen und schwer (1 : 50) agglutinierbaren Kulturen bei 32° und 37° C werden wenig schleimig und leicht (1 : 2000) agglutiniert, wenn sie bei Eisschranktemperatur kultiviert werden.

5) Die schleimigen und schwer (1 : 50) agglutinierbaren Kulturen bei 37° C werden stärker (1 : 200) agglutiniert, wenn sie mit physiologischer Kochsalzlösung mehrmals ausgewaschen werden.

6) Daß die schwer agglutinierbare Kultur eine virulente sei, wie Kolle behauptet, konnte ich nicht bestätigen.

7) Daß eine schwer agglutinierbare Kultur eine geringere Anzahl der haptophoren Gruppe hat, wie Cole beim Typhusbacillus beobachtete, konnte ich bei Pestkulturen nicht nachweisen.

8) Also steht die Agglutinabilität mit der Beschaffenheit der Kultur im Zusammenhang und die Beschaffenheit ist von der Wachstumstemperatur abhängig.

Literatur.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903. Heft 1.
2) Lancet. 1901. Vol. I.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. No. 21.
4) Baumgartens Jahresber. 1901.
5) Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 3.
6) Erforschung der Pest im Jahre 1897.
7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901. Heft 3.
8) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903. Heft 1.
9) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. 1904. Heft 3.

Nachdruck verboten.

Ueber das Wachstum der Gonokokken auf serumhaltigen Nährböden.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. **Oskar Stross.**

Die Eigentümlichkeiten des Wachstums der Gonokokken auf künstlichen Nährböden bieten insofern besonderes Interesse, als es nahe liegt, die Begünstigung des Wachstums dieser Organismen durch Serum mit den pathogenen Eigenschaften derselben in Beziehung zu setzen. Trotzdem ist das Verhalten der Gonokokken bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden noch nicht nach allen Richtungen analysiert und es bleiben einige Fragen offen. Diese betreffen erstens den Wert des tierischen Serums im Vergleiche zum menschlichen in Bezug auf seine Fähigkeit als Nährsubstrat zu dienen, zweitens die Rolle, die das Serum bei der Kultur überhaupt spielt.

Ueber die Verwendbarkeit der menschlichen und der tierischen Sera berichten die bisher erschienenen Arbeiten folgendes:

Der erste, der ein Serumagar als Nährboden verwendete, war Steinschneider[1]). Dieser benützte Agar mit Hydrokelenflüssigkeit im Verhältnis von 1:2—3 gemischt. Wertheim[2]) goß Menschenserumagar in Platten. Steinschneider[3]) erhielt auf Menschenserumagar gutes Wachstum, auf Agar mit Zusatz von Rinder- und Hundeserum spärliches, von Hammelserum kein Wachstum. Finger, Ghon und Schlagenhaufer[4]) bezeichnen auch nur das menschliche Serum als sicheres Nährmedium, Rinderserum gebe häufig schlechte Resultate. Wright[5]) erzielte mit Rinderserum ungenügende Resultate. Steinschneider und Schäffer[6]), ferner Wassermann[7]) erklären in erster Linie Menschenserum als guten Nährboden, in zweiter Linie erst könne Tierserum verwendet werden. Auf Serum vom Pferd und Rind beobachtete de Christmas[8]) kein oder nur schlechtes Wachstum, gutes auf

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1890.
[2]) Arch. f. Gyn. 1892.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1893.
[4]) Arch. f. Derm. u. Syph. 1894.
[5]) Americ. Journ. of the med. sc. 1895. Febr. Ref. in Baumgartens Jahresber.
[6]) Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 45.
[7]) Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 32.
[8]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.

Menschenserum. Foulerton[1]) hatte sehr wechselnde Resultate mit Rinder-, Schaf-, Meerschweinchen- und Pferdeserum. Nach Veillon[2]) versagen die Sera von Rind, Kaninchen und Meerschweinchen häufig. Wertheim[3]) hat die Beobachtung gemacht, daß sich nicht jedes menschliche Serum zur Züchtung von Gonokokken eigne. Nach Scholtz[4]) sind nur Nährböden mit menschlichen serösen Flüssigkeiten vollkommen verläßlich; auf dem Serum von Tieren kommen nur die kräftigeren Keime zur Entwickelung. Groenouw[5]) hatte mit Rinderserum nur einmal Erfolg, sonst mißlangen ihm auf diesem Nährboden die Kulturen stets. Wassermann[6]) stellte einen Nährboden mit Hilfe von Nutrose und Schweineserum her. Es finden also die meisten Autoren, daß menschliches Serum als Zusatz zum Nährboden vorzuziehen ist. Gewiß sind aber die Angaben nicht so klar, daß man sich ein vollständiges Bild von den Verhältnissen machen könnte.

Ich habe die Frage neuerdings aufgenommen und in einer ziemlich großen Zahl von Versuchen Gonokokken auf Nähragar einerseits mit Zusatz von menschlichem, andererseits von tierischem Serum in variierten Mengen überimpft und die Ergebnisse verglichen. Das verwendete frische Serum wurde gewöhnlich mehrere Male durch eine Stunde auf 60° erhitzt und vor der Verwendung auf Sterilität geprüft. Der Nähragar wurde nach der gewöhnlichen Vorschrift aus Rindfleisch hergestellt und mit Lackmuspapier auf deutlich alkalische Reaktion eingestellt. Dann wurde bei jedem Stamme das Wachstum auf einfachem Agar ausprobiert. Die Kulturen wurden in Petri-Schalen angelegt. Der Nährboden wurde nur verwendet, wenn es sich zeigte, daß er mit etwa einem Drittel Menschenserum versetzt, Gonokokken üppig wachsen ließ, nicht aber ohne Serumzusatz. Das Serum wurde gewöhnlich in Mengen von 0,25 und 3 ccm, öfter auch von 1 ccm als Zusatz zu 10 ccm Agar angewendet. Der Gonococcus wurde immer von einer frischen Menschenserum-Agarkultur abgeimpft und gewöhnlich wurden nicht zu lange — bis etwa zur 20.—25. Generation fortgezüchtete Kulturen angewendet.

Unsere Versuche ergaben, daß das menschliche Serum (Placentaserum) in allen Fällen und zwar sowohl in der Menge von 0,25 als 1,0 und 3,0 ccm gute Kulturen gab. Dagegen verhält sich das Tierserum individuell auffallend verschieden. Wir untersuchten das Serum von 34 verschiedenen Rindern, 23 Pferden und einigen Kaninchen. Es fand sich ein 3-fach verschiedenes Verhalten. Eine Anzahl der Sera gab gute Kulturresultate, so gut oder beinahe so wie Menschenserum. Einige wenige Sera waren vollkommen unbrauchbar für die Gonokokkenkultur, und bei einer Anzahl zeigte sich das merkwürdige Verhalten, daß zwar ein geringer Zusatz, z. B. 0,25 ccm, gutes oder doch deutliches Wachstum gestattete, während bei Zusatz größerer Mengen (1,0—3,0 ccm) das Wachstum ausblieb oder sich verschlechterte.

Ein Schluß, der sich aus den angeführten Versuchen ziehen läßt, ist, daß das Serum der verwendeten Tiere große individuelle Verschiedenheiten zeigt, ein Verhalten, das anderen, durch verschiedene Reaktionen bisher schon konstatierten individuellen stofflichen Differenzen des Blut-

---

1) Transact. of the Brit. Inst. of prev. med. Vol. I.
2) Ann. de Derm. et Syph. 1898.
3) Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. LI.
4) Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. XLIX.
5) Gräfes Arch. f. Ophth. Bd. LII.
6) Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 32.

serums an die Seite zu stellen ist. Es ist dadurch verständlich, daß die praktische Verwendung tierischer Sera nicht so empfehlenswert ist als die des menschlichen Serums und daß darüber widersprechende Angaben vorliegen. Ein zweiter Schluß, der sich ziehen läßt, ist der, daß manche Tiersera Substanzen enthalten, die das Wachstum der Gonokokken hemmen und deren Wirkung unter gewissen Bedingungen merklich wird. Daß es sich um irgend eine Form von Hemmung des Wachstums und nicht einfach um ein Zuwenig an Nährsubstanzen handelt, geht daraus hervor, daß eben häufig kleine Mengen des Serums ein Wachstum zulassen, größere nicht. Dabei wäre es aber möglich, daß dieselben Stoffe in geringen Quantitäten dem Wachstum förderlich sind, in größeren dasselbe hindern. Die Ursache dieser Hemmung könnte man entweder in den Eiweiß- resp. Kolloidsubstanzen des Serums suchen oder in den kristallinischen und anorganischen Bestandteilen. Wir sind eher geneigt, an den Einfluß der kolloidalen Substanzen zu denken und nicht an die Wirkung der Salze oder die Wirkung bestimmter Alkaleszenzgrade, wie es schon mehrfach angenommen wurde. Dafür sprechen uns Versuche, von denen wir die folgenden als Beispiel anführen.

Bezeichnung des Gonokokkenstammes	Art des Serumzusatzes	Wachstum
B. XIII. Generation	3,0 ccm Rinderserum (I.)	steril
do.	0,25 ccm Rinderserum (I.)	sehr gut auf allen Strichen
do.	3,0 ccm Rinderserum (I.) + 0,25 ccm Menschenserum	gut auf allen Strichen
A. XXI. Generation	3,0 ccm Rinderserum (V.)	steril
do.	0,5 ccm Rinderserum (V.)	ein Strich schwach
do.	3,0 ccm Rinderserum (V.) + 0,3 ccm Menschenserum	gut, fast üppig
do.	0,5 ccm Rinderserum (V.) + 0,3 ccm Menschenserum	gut
do.	3,0 ccm Rinderserum (V.) + 0,2 ccm Menschenserum	alle Striche gut, fast üppig
do.	0,5 ccm Rinderserum (V.) + 0,2 ccm Menschenserum	dürftiges Wachstum
do.	3,0 ccm Rinderserum (V.) + 0,1 ccm Menschenserum	mittleres Wachstum
do.	0,5 ccm Rinderserum (V.) + 0,1 ccm Menschenserum	schwaches Wachstum auf einem Strich

Es ist nach diesen Versuchsergebnissen nicht anzunehmen, daß es sich bei den hier angeführten Wachstumshemmungen um einen Einfluß der Salze oder der Alkalien handeln könne, da man nicht leicht verstehen kann, wie eine solche Einwirkung durch den Zusatz von sehr geringen Mengen von Menschenserum aufgehoben werden könnte, um so mehr, da solche Substanzen, die an und für sich das Wachstum der Gonokokken befördern, wie die Versuche zeigen, auch im verwendeten Rinderserum vorhanden sind und nicht erst durch das Menschenserum hinzukamen. Diese Versuche lassen es als wahrscheinlicher erscheinen, daß es sich hier sowohl bei der Hemmung als auch bei der Aufhebung dieser Hemmung durch Menschenserum um Reaktionen zwischen hoch zusammengesetzten Stoffen, vermutlich den Eiweißkörpern der Sera und den Bakterien handeln dürfte. Man wird so auf die zweite aufgeworfene Frage geführt, nämlich die, welchen Einfluß das Serum überhaupt ausübt, aus welchem Grunde das Serum wachstumsfördernden Einfluß besitzt. Es kann sich dabei gewiß nicht einfach um die Anwesenheit hoch zusammengesetzter Eiweißstoffe des Serums im Gegensatze zu den in den gewöhnlichen Nährsubstraten vorhandenen Albumosen handeln, denn es kommt die Eigenschaft, das Gonokokkenwachstum zu fördern, nicht unterschiedslos allen Eiweißkörpern zu. Es müssen vielmehr auch die besonderen Eigentümlichkeiten der zur Verwendung kommenden hoch zusammengesetzten Stoffe in Frage kommen, und es ist wohl daran zu denken, daß die in Betracht kommenden Beziehungen zwischen dem Serum und den Mikroben nach ähnlichen Prinzipien zu erklären sind wie die spezifischen Beziehungen zwischen Bakterien und Antikörpern. Für diese Auffassung sind als Stützen die oben angeführten Versuche anzusehen, ferner die Erfahrung, daß viele sogenannte native Eiweißstoffe ungeeignet oder doch schlechter brauchbar für das Gonokokkenwachstum sind als die Bestandteile des Serums. Wir finden in der Literatur über die Verwendung anderer Eiweißkörper als der des Serums folgende Angaben: Im Jahre 1889 veröffentlichten Schrötter und Winkler[1]) Angaben über erfolgreiche Fortpflanzungen von Gonokokken auf in Röhrchen erstarrtem Kibitzeiweiß. Steinschneider[2]) hatte mit eiweißhaltigem Urinagar keine günstigen Resultate, ebensowenig mit mucinhaltigen Nährböden (Zusatz von sterilisiertem Speichel). Im Gegensatz dazu fand Hammer[3]), daß eiweißhaltiger Urin als Zusatz zum Agar ein guter Nährboden sei. Einen neuen wachstumfördernden Zusatz fand Nastjakoff[4]) im Eigelb, ebenso auch See[5]). Eiweißhaltiger Urin und Hühnereiweiß wurden als Nährboden auch von de Christmas[6]) verwendet; er hatte kein oder schlechtes Wachstum auf den so zusammengesetzten Nährböden. Auch Steinschneider[7]) verwirft Fleischwasser, Eiweißwasser, Pepton als Nährboden, findet aber im Eidotter einen zwar undurchsichtigen, doch recht verläßlichen Nährboden[8]). Spärliches Wachstum erhielt Heimann[9]) auf Agar mit eiweißhaltigem Urin versetzt; bessere Resultate berichtet über diesen Nährboden Wagner[11]). Ein französischer Autor, Veillon[12]), prüfte die von Schrötter-Winkler, Nastjakoff und See gemachten Angaben nach und findet alle diese Nährböden unverläßlich; auch Hämoglobin und Globulin seien zum Gonokokkenwachstum unzureichend. Nach Scholtz kommen in Eiweiß-Urinagar sowie (v. o.) in Tierseren nur die kräftigeren Keime zur Entwickelung, Eidotteragar ergibt ungleichmäßige Resultate. Mit Eiereiweiß hatte Jundell[13]) keine brauchbaren Resultate; schließlich berichtet Lipschütz[1]) kürzlich über seine Versuche mit einem im Handel erhältlichen Präparat „Albumin aus Eiern pulv. subt.“, mit welchem er gute Erfahrungen machte.

---

[1]) Aus dem Wien. embryolog. Inst. 1890. Ref. in Baumgartens Jahresber. 1890.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1893.
[3]) Dtsche med. Wochenschr. No. 51.
[4]) Wratsch 1893. Ref. in Baumgartens Jahresber.
[5]) Paris, Alkan. Ref. in Baumgartens Jahresber. 1896.
[6]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
[7]) Wien. med. Wochenschr. No. 13.
[8]) Berl. klin. Wochenschr. No. 18.
[9]) Med. Record. New York. Vol. L. Ref. in Baumgartens Jahresber.
[11]) Bull. of the John Hopkins Hosp. Vol. VIII. Ref. in Baumgartens Jahresber.
[12]) Ann. de Derm. et Syph. 1898.
[13]) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX.

Auch ich habe Versuche mit anderen Stoffen als denen des Serums ausgeführt und habe kein Wachstum bekommen bei Zusatz von kristallisiertem Hämoglobin, Nutrose, Aleuronat und Kaseïn; auf letzterem einmal sehr spärlich. Mit Eidotter habe ich im allgemeinen recht günstige Erfahrungen gemacht, ebenso mit Milch, die ich entweder durch Kochen oder mehrmaliges einstündiges Erhitzen sterilisierte; diese beiden Zusätze haben den Nachteil der Undurchsichtigkeit. Mit zentrifugierten und gewaschenen roten Blutkörperchen ließen sich auch regelmäßig die Gonokokken in üppiger Weise zum Wachstum bringen; die Zusatzmenge betrug 1 ccm zu 10 ccm Agar.

Ich habe ferner Versuche angestellt mit Hilfe von Ammonsulfat nach dem bekannten Verfahren (Pick), die Eiweißkörper zu fraktionieren, und es wurde dabei in den angestellten Versuchen kein einheitliches Resultat gefunden. Gewöhnlich ließen die Albuminlösungen deutlich besseres Wachstum zu als die Globulinlösungen.

Es wurde ferner noch festgestellt, daß durch Erhitzen die wachstumbegünstigende Wirkung des Serums nicht verloren geht, indem verdünntes Serum aufgekocht und das abfiltrierte Koagulat zu dem Nähragar hinzugefügt wurde. Auch so erhielt ich gutes Wachstum bei sterilen Kontrollplatten auf dem ohne Zusatz gebliebenen Nähragar. Wurde das Koagulat durch Trypsin in Lösung gebracht, so konnte man durch Zusatz der gewonnenen Flüssigkeit nicht für Gonokokkenwachstum geeignete Nährböden erzielen. Doch sind die diesbezüglichen Versuche noch nicht zu Ende geführt. Diese Beobachtung der Hitzebeständigkeit der wirksamen Substanzen spricht nicht gegen die oben geäußerte Auffassung, da ja auch eine Anzahl von spezifischen Reaktionen beobachtet wurde, deren Substrate bei Erhaltung der spezifischen Eigenschaften der Kochhitze ausgesetzt werden können (Präzipitation gekochter Eiweißkörper, Pick und Obermayer). Meine Meinung wird ferner nicht dadurch widerlegt, daß unter gewissen Umständen Gonokokken auf Nährböden wachsen, denen kein Serum und keine natives Eiweiß enthaltende Flüssigkeit zugesetzt wurde, wie dies Thalmann[2]), Wildboltz[3]) und viele andere beobachteten; denn es ist der häufigere Fall, daß die gewöhnlichen Nährböden nicht ausreichen, um das Gonokokkenwachstum zu ermöglichen und eben für diese Fälle gilt das Gesagte. Auch wir konnten gelegentlich Gonokokkenkulturen auf den gewöhnlichen Nährböden erhalten, aber nur mit gewissen Stämmen bezw. Generationen, wie auch zu bemerken ist, daß bei Versuchen, wie den unsrigen, außer der Verschiedenheit der Sera auch die Verschiedenheit der übrigen Nährsubstrate und der Kokkenstämme eine beträchtliche Rolle spielt. Den Einfluß aller dieser Umstände im besonderen aufzuklären, erübrigt noch.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind, daß verschiedene Tiersera, wenn man sie in Bezug auf ihre Eigenschaft, das Gonokokkenwachstum zu fördern, untersucht, von Tier zu Tier stark schwankende Eigenschaften haben. Menschenserum gibt dagegen regelmäßige Resultate. Da manche der verwendeten Tiersera unter gewissen Bedingungen zwar

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 1904.
2) Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. LXIV.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI.

in kleineren Mengen nicht, wohl aber in größeren Mengen wachstumshemmend wirken, so ist in ihnen die Anwesenheit von wachstumshemmenden Stoffen anzunehmen. Für alle diese Verhältnisse dürfte die Beschaffenheit der Eiweißkörper bezw. Kolloide eher von maßgebender Bedeutung sein, als die der einfach zusammengesetzten Stoffe, z. B. der Salze, namentlich mit Rücksicht auf die geringen wirksamen Serummengen (s. o.), Das besondere Verhalten des menschlichen Serums gegenüber einer Reihe tierischer Sera beim Kulturversuch ist schwerlich ohne jede Beziehung zu der Disposition gerade des Menschen für die Gonokokkenerkrankung.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bartel, Julius und **Stein, Robert**, Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen. (Schluß.), p. 393.

Bertarelli, E., Einige Untersuchungen über die Tuberkulose der Reptilien, p. 403.

Doerr, R., Beobachtungen über bacilläre Dysenterie, p. 420.

Ellermann, V., Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen, p. 383.

Fermi, Claudio und **Bassu, E.**, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. (Schluß.), p. 369.

Forssman, J., Studien über die Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung gegen Botulismus, p. 463.

Jörgensen, Axel, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis, p. 475.

Klein, E., Ueber die Verbreitung des Bacillus enteritidis Gaertner in der Kuhmilch, p. 392.

van Loghem, J. J., Bakteriologischer Befund bei spontaner vesikaler Pneumaturie eines diabetischen Kranken, p. 425.

Lüdke, H., Zur Spezifität der Antikörper. [Forts.], p. 451.

Neufeld, F. und **Töpfer, H.**, Ueber hämolytische und hämotrope Sera, p. 456.

Ottolenghi, D. und **Mori, N.**, Die Wirkung des Aethyläthers auf die hämolytischen und bakteriziden Sera. (Schluß.), p. 468.

Rullmann, W., Ueber das Verhalten des in Erdboden eingesäten Typhusbacillus, p. 380.

Shibayama, G., Ueber die Agglutination des Pestbacillus, p. 482.

Stross, Oskar, Ueber das Wachstum der Gonokokken auf serumhaltigen Nährböden, p. 491.

Tiberti, N., Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern. (Forts.), p. 413.

Widakowich, Victor, Ueber Nematoden an der Hypophysis cerebri von Felis domestica, p. 447.

Ziemann, Hans, Beitrag zur Trypanosomenfrage. (Schluß.), p. 429.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 5.

Nachdruck verboten.

Paratyphus in Japan.

[Aus dem kais. Institute für Infektionskrankheiten in Tokio
(Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von Dr. **G. Shibayama,** Abteilungsvorsteher im Institute.

Seit Ch. Achard und Bensaude zuerst im Jahre 1896 zwei Fälle von Paratyphus mitgeteilt hatten, wurde diese Krankheit in verschiedenen Ländern: Nordamerika (Baltimore, New York, Philadelphia), Deutschland (Hamburg, Bremen, Straßburg, Saarbrücken), England (Liverpool), Holland (Eisbergen) und Rumänien (Jassy) beobachtet und beschrieben.

Im Oktober 1902 habe ich in unserer Krankenabteilung einen Kranken beobachtet, der die Symptome von klassischem Typhus abdominalis darbot und im Laufe der Tage keine deutliche Widalsche Reaktion zeigte. Dr. Saito, Assistent im Institute, hat aus dem frisch gelassenen, blutig getrübten Harn dieses Kranken ein Stäbchen (Stäbchen A) gezüchtet, welches durch Serum des Patienten bei einer Verdünnung von 1:5000 agglutiniert wurde und kulturell sich wie Schottmüllers Paratyphusbacillen verhielt.

Fast gleichzeitig, aber unabhängig von uns, hat Dr. Okasaki in der Provinz Shimane drei ähnliche Fälle beobachtet und publiziert. Daß die Stäbchen, welche Okasaki aus Kot der Kranken isoliert hat, ganz dieselben wie die unseren sind, wurde durch unsere nachträglichen Vergleichsuntersuchungen festgestellt. Im folgenden Jahre (1903) wurden ähnliche Fälle in der Provinz Kanagawa und Formosa und in diesem Jahre (1904) wieder in Formosa und Tokio beobachtet und beschrieben. In unserer Krankenabteilung habe ich auch 1903 einen Fall (B) und in diesem Jahre zwei Fälle (C und D) beobachtet und aus Kot, Roseolen und Harn jedes Patienten ein Stäbchen isoliert, welches mit dem Patientenserum spezische Reaktionen gab.

Agglutination des Stäbchens B und des Typhusbacillus durch Patient-B-Blutserum.

Serum vom 10. Tage nach dem Krankheitsbeginn:
gegen Stäbchen B $A_8 = 1:5000$
„ Typhusbacillus $A_8 = 1:200$
Serum vom 39. Tage nach dem Krankheitsbeginn:
gegen Stäbchen B $A_8 = 1:1000$
„ Typhusbacillus $A_8 = 1:50$

Agglutination des Stäbchens C und des Typhusbacillus durch Patient-C-Blutserum.

Serum vom 11. Tage nach dem Krankheitsbeginn:
gegen Stäbchen C $A_8 = 1:200$
„ Typhusbacillus $A_8 = 1:200$
Serum vom 44. Tage nach dem Krankheitsbeginn:
gegen Stäbchen C $A_8 = 1:800$
„ Typhusbacillus $A_8 = 1:20$

Agglutination des Stäbchens D und des Typhusbacillus durch Patient-D-Blutserum.

Serum vom 14. Tage nach dem Krankheitsbeginn:
gegen Stäbchen D $A_8 = 1:800$
„ Typhusbacillus $A_8 = 1:50$

Morphologische und biologische Eigenschaften der drei Stäbchen.

Unser Stäbchen gehört zu den Bakterien und zeigt ziemlich lebhafte Eigenbewegung. Es nimmt leicht die gewöhnlichen Anilinfärbungen an, die Gramsche Färbung aber nicht. Bei Brüttemperatur wächst es besser als bei Zimmertemperatur und gehört zu den fakultativen Anaëroben. Auf Agar wächst es üppig, grau durchscheinend und bildet häufig Gasblasen. Die Kolonieen auf Gelatine (nach 48 Stunden bei 20° C) sehen speckig-grau durchscheinend aus. Unter dem Mikroskop sehen die oberflächlichen Kolonieen rundlich, gelblich und feinkörnig aus; sie zeigen nach 4 Tagen eine irisartige Struktur, nämlich die äußere Schicht ist dünn, hellgelb und feinfaserig und die innere Schicht ist dunkelgelblich und grobkörnig. In Traubenzuckeragar-Stichkultur findet starke Gasbildung statt. In Neutralrotagar tritt grüne Fluoreszenz auf. Bouillon und Peptonwasser werden gleichmäßig getrübt, aber Indolbildung fehlt. Das Wachstum auf Kartoffel ist unsichtbar. Milch bleibt unverändert. Lackmusmolke ist schon nach 20 Stunden gerötet. Die Tierpathogenität (Meerschweinchen, 250 g schwer) schwankt von $^1/_4$ bis $^1/_{10}$ Oese (1 Oese = 2 mg) bei intraperitonealer Infektion. Durch Immunitätsreaktion der Stäbchen (A, B, C und D) gegeneinander habe ich festgestellt, daß sie ganz identisch sind.

Nach den oben mitgeteilten Ergebnissen war ich der Meinung, daß die typhusähnliche Krankheit in Japan verursacht wird durch ein Stäbchen, dessen Eigenschaften der Beschreibung nach von dem B. paratyphosus Typus B von Keyser nicht zu unterscheiden ist, und es sich bei dieser Krankheit vielleicht um Paratyphus handele. Ich konnte aber nicht mit Sicherheit sagen, daß Paratyphus auch in Japan existiert, da ich keine Gelegenheit hatte, vergleichende Studien zwischen unserem Stäbchen und dem Paratyphusbacillus anzustellen.

Ende September dieses Jahres hat Herr Dr. K. Shiga eine Paratyphuskultur (Typus B) aus Deutschland, die ihm von Herrn Dr. Conradi in Saarbrücken überreicht wurde, uns mitgebracht und mir überlassen, wofür ich beiden Herren meinen aufrichtigen Dank ausspreche. Bei den vergleichenden Untersuchungen unseres Stäbchens mit diesem Paratyphusbacillus, Typus B, fand ich, daß die beiden Stäbchen ganz identisch sind.

Einige Protokolle der Immunitätsreaktion lasse ich hier folgen:

Agglutination des Paratyphuskaninchenserums (PKS) gegen Paratyphusbacillus und unser Stäbchen.

Serumverdünnung	Paratyphusbacillus	Stäbchen A	Stäbchen C
1:50	+	+	+
1:100	+	+	+
1:200	+	+	+
1:400	+	+	+
1:800	+	+	+
1:1000	+	+	+
1:2000	+	+	+
1:4000	+	—	—

Schutzwirkung des Paratyphuskaninchenserums (PKS) gegen Paratyphusbacillus und unser Stäbchen.

Meerschw. 1 erhält intraperitoneal PKS 0,005 + 1 Oese Paratyphuskultur, lebt
„ 2 „ „ „ 0,01 + 1 „ „ „
„ 3 „ „ $^1/_4$ Oese Paratyphuskultur, tot nach 20 Stunden

Meerschw. 4 erhält intraperitoneal PKS 0,005 + 1 Oese A-Kultur, lebt
„ 5 „ „ „ 0,01 + 1 „ „ „
„ 6 „ „ $^1/_4$ Oese A-Kultur, tot nach 24 Stunden
„ 7 „ „ PKS 0,005 + 1 Oese C-Kultur, lebt
„ 8 „ „ „ 0,01 + 1 „ „ „
„ 9 „ „ $^1/_5$ Oese C-Kultur, tot nach 18 Stunden

Agglutination des Stäbchen-C-Kaninchenserums gegen Paratyphusbacillus und andere Stäbchen.

Serumverdünnung	Paratyphusbacillus	Stäbchen A	Stäbchen B	Stäbchen C
1:50	+	+	+	+
1:100	+	+	+	+
1:200	+	+	+	+
1:400	+	+	+	+
1:800	+	+	+	+
1:1000	+	+	+	+
1:2000	+	+	+	+
1:4000	+	+	+	+
1:5000	—	—	—	+

NB. Die Immunsera wurden durch 2malige (im ganzen 3 Agarkulturen) subkutane Injektion von 18-stündigen, bei 37° C gewachsenen und $^1/_2$ Stunde lang auf 60° C erhitzten Agarkulturen gewonnen.

Die Agglutination wurde nach einer Stunde im Brütofen makroskopisch untersucht.

Durch die vorstehenden Untersuchungen habe ich nun mit Bestimmtheit festgestellt, daß Paratyphus auch in Japan existiert.

Tokio, November 1904.

Nachdruck verboten.

Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern.

[Institut für allgemeine Pathologie zu Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig).]

Von Dr. N. **Tiberti**,
Privatdozent für Bakteriologie an der k. Universität Florenz.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß beim Meerschweinchen und beim Kaninchen der 2 Tage vorher in der Incisura ischiadica durchschnittene N. ischiadicus im stande ist, das Tetanustoxin aufzunehmen und es zu den Nervenzentren hinzuleiten, und zwar weder in höherem noch in geringerem Grade als der unverletzte N. ischiadicus.

Der 10, 15 Tage oder 1 Monat vorher durchschnittene N. ischiadicus erweist sich nur in ganz leichtem Grade toxisch, und dieser sehr geringe Grad von Toxizität rührt vielleicht von Spuren von Toxin her, die im Blut und in der Lymphe des Nerven enthalten sind.

Aus meinen Darlegungen ergibt sich als unzweifelhaft sicher die Bedeutung, welche die Integrität der Achsencylinder für die Resorption und den Transport des Tetanustoxins besitzt.

Durch die vorhergehenden Experimente wurde die Tatsache erwiesen, daß das in die Wadenmuskeln injizierte Toxin sich im entsprechenden N. ischiadicus vorfindet, so daß dieser, wenn man ihn unter die Haut einer weißen Maus inokuliert, Tetanuserscheinungen verursacht, auf die in den meisten Fällen der Tod folgt.

XII. Wie lange nach der Injektion das Tetanustoxin im Blute und in den Nerven nachweisbar ist.

Es entsteht nun die Frage: Wie lange nach der Injektion in die Muskeln findet sich das Tetanustoxin in bedeutender Menge in den Nervenstämmen, durch welche die Muskeln innerviert werden?

Um diese Frage zu beantworten, habe ich die folgenden Experimente ausgeführt, bei denen ich gleichzeitig die Toxizität der Nerven und des Blutes untersuchte, um einander gegenüberstehende Termine festsetzen zu können bezüglich der Zeit, die zum Eindringen des Toxins in die Nerven und in das Blut erforderlich ist.

Meerschweinchen XIII. Gewicht 320 g.

21. März 1904, 10 Uhr vorm. Ich injiziere in die Muskeln der rechten Wade $^1/_2$ ccm Tetanustoxin. Nach 10 Minuten töte ich das Meerschweinchen, nehme ein $1^1/_2$ cm langes Stück des N. ischiadicus derselben Seite und inokuliere es unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage gar keine Erscheinungen von Tetanus zeigt. Demselben Meerschweinchen entnehme ich ca. 1 ccm Blut aus dem Herzen und injiziere es einer anderen Maus unter die Haut. Diese Maus zeigt ganz leichte Erscheinungen von Tetanus und überlebt.

Meerschweinchen XIV. Gewicht 380 g.

21. März 1904, 3 Uhr nachm. Injektion von Tetanustoxin, wie oben.

3 Uhr 30 Min. nachm. Ich inokuliere unter die Haut einer Maus ein Stück vom rechten N. ischiadicus des Meerschweinchens. Die Maus zeigt während der folgenden Tage gar keine Erscheinungen von Tetanus. Ich entnehme dem Herzen des Meerschweinchens 1 ccm Blut und inokuliere es einer anderen Maus unter die Haut. Letztere zeigt während der folgenden Tage ganz deutliche Erscheinungen von Tetanus, überlebt aber.

Meerschweinchen XV. Gewicht 350 g.

21. März 1904, 4 Uhr 30 Minuten nachm. Injektion von Tetanustoxin, wie oben.

5 Uhr 30 Min. nachm. Ich töte das Meerschweinchen und führe die gewöhnlichen Versuche aus mit dem rechten N. ischiadicus und mit dem Herzblut.

Die mit dem N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt keine Erscheinungen von Tetanus.	Die mit dem Blute geimpfte Maus zeigt Erscheinungen von Tetanus. Verendet in der Nacht vom 24. zum 25. März.

Meerschweinchen XVI. Gewicht 420 g.

22. März 1904, 9 Uhr 30 Min. vorm. Injektion von Tetanustoxin in die rechte Wade.

11 Uhr vorm. Ich töte das Kaninchen und führe die gewöhnlichen Versuche an Mäusen aus.

Die mit dem N. ischiadicus geimpfte Maus zeigt Erscheinungen von lokalem Tetanus nach 2 Tagen — überlebt.	Die mit dem Blute geimpfte Maus zeigt Erscheinungen von Tetanus und Tod am 24. März vormittags.

Aus diesen Experimenten ergibt sich die Schlußfolgerung, daß das in die Wadenmuskeln eines Meerschweinchens inokulierte Tetanustoxin sich im Blute in solcher Menge findet, daß es, wenn auch sehr leichte, Erscheinungen von Tetanus schon 10 Minuten nach der Inokulation hervorruft. Im Blute findet es sich in solcher Menge, daß es bei der Maus nach 1 Stunde tödlich verlaufenden Tetanus erzeugt, wenn nicht weniger als 1 ccm Blut zur Impfung verwendet wird.

Das in die Wade eines Meerschweinchens inokulierte Tetanustoxin trifft man in dem entsprechenden N. ischiadicus nicht in solchen Mengen an, daß es eher als $1^1/_2$ Stunde nach der Injektion Erscheinungen von lokalem Tetanus hervorruft.

XIII. Intranervöse Inokulation von Tetanustoxin.

Nachdem ich durch die vorhergehenden Untersuchungen die große Affinität der peripherischen Nerven zum Tetanustoxin nachgewiesen hatte, wollte ich untersuchen, welche Wirkungen seine direkte Inokulation in das Parenchym der Nervenstämme zur Folge hat, analog den Versuchen, die Di Vestea und Zagari bezüglich des Virus der Tollwut angestellt haben.

Zu Versuchstieren wählte ich Kaninchen, Hunde und Meerschweinchen, der Nerv, der mir zu diesem Zweck als der am meisten geeignete erschien, war der N. ischiadicus.

Ich versuchte stets, die Injektion in das Parenchym des Nerven zu machen, indem ich eine ganz feine und etwas gekrümmte Nadel benutzte. Damit die Injektion gut gelingt, muß man eine sehr geringe Menge Toxin injizieren und die Flüssigkeit ganz langsam weiterdrängen, indem man die starke Ausdehnung der Lymphgefäße soviel als möglich vermeidet. Wenn die Injektion gut gelingt, so bemerkt man während ihrer Ausführung, daß die Flüssigkeit auf einen besonderen Widerstand stößt; macht man dagegen die Injektion einfach unter der Nervenscheide, so stößt die Flüssigkeit auf keinen Widerstand, die Nervenscheide dehnt sich beträchtlich aus, und wenn man mit der Injektion fortfährt, so kann sie zerreißen, so daß die Flüssigkeit sich in die benachbarten Gewebe ergießt.

Vor Ausführung der Inokulation ins Innere der Nerven habe ich stets den Nerven sorgfältig isoliert und unter ihn ein Stückchen Pergamentpapier eingeschoben, um zu verhindern, daß das Tetanustoxin zufälligerweise die benachbarten Gewebe benetzte. Nachdem ich die Injektion ausgeführt und die Nadel zurückgezogen hatte, verschloß ich das kleine Loch durch etwas elastisches Kollodium, zog das Pergamentpapier heraus und brachte den Nerven wiederum an seine Stelle.

Kaninchen IV. Gewicht 1,850 kg.

15. März 1904. Ich isoliere die beiden N. ischiadici auf die soeben beschriebene Weise und inokuliere in dieselben eine kleine Dosis Tetanustoxin, indem ich die Flüssigkeit ganz langsam weitertreibe. Ich bemerke den besonderen Widerstand, der, wie ich schon sagte, ein Anzeichen dafür ist, daß die Injektion gelingt und wirklich das Parenchym erreicht. Ich ziehe die Nadel zurück, schließe das kleine Loch mit Kollodium und vernähe die Wunde.

16. März. Es ist keine Erscheinung von Tetanus zu beobachten. Die Hinterbeine sind durchaus nicht starr.

17. März vorm. Das rechte Hinterbein zeigt starke Kontrakturen, das linke in geringerem Grade.

18. März vorm. Die Kontraktur im linken Hinterbein ist stärker.

18. März abends. Es beginnen sich Erscheinungen von allgemeinem Tetanus zu zeigen, die am 19. März noch deutlicher werden. Das Kaninchen verendet in der Nacht vom 19. auf den 20. März.

Kaninchen V. Gewicht 1,670 kg.

15. März 1904. Dieselbe Behandlung wie beim vorigen. Es verendet am 19. März unter heftigen Erscheinungen von Tetanus.

Zwei Kontrollkaninchen (VI und VII), die ungefähr dasselbe Gewicht haben wie die vorigen, werden gleiche Dosen, d. h. einige Tropfen Toxin injiziert, einen in die Vena marginalis des rechten Ohres, den anderen unter die Haut der rechten Pforte.

Sowohl das eine als das andere der beiden Kaninchen zeigt nicht die geringsten Erscheinungen von Tetanus.

Meerschweinchen XVIII. Gewicht 590 g.

16. März 1904. Ich isoliere die beiden N. ischiadici auf die oben erwähnte Weise und injiziere Tetanustoxin in dieselben. Die Injektion gelingt nicht so gut wie bei dem N. ischiadicus des Kaninchens, und zwar wegen des geringen Volumens des Nervenstammes.

Am folgenden Tage zeigt das Meerschweinchen starke Kontrakturen in den Hinterbeinen und verendet unter Erscheinungen von Tetanus am 18. März.

Meerschweinchen XVII. (Kontrolltier.) Subkutane Injektion von Tetanustoxin in einer Dosis, die ungefähr der Gesamtdosis des Toxins gleich ist, die in die N. ischiadici des vorigen Meerschweinchens injiziert wurde. Während der folgenden Tage zeigt es keine deutlichen Erscheinungen von Tetanus.

Hund I. 5,860 kg.

22. März 1904. Nachdem ich die N. ischiadici auf die gewohnte Weise bloßgelegt habe, injiziere ich in dieselben kleine Dosen Tetanustoxin.

Am folgenden Tage keine Erscheinungen von Tetanus. Die Hinterbeine sind vollständig frei.

24. März. Das rechte Hinterbein zeigt bemerkenswerte Kontrakturen (man beobachtete, daß die Injektion ins Parenchym im wahren Sinne des Wortes besser am rechten N. ischiadicus gelang als am linken, wo ein großer Teil des Toxins sich in der Scheide des Bindegewebes ausbreitete).

25. März. Die Kontrakturen im rechten Hinterbein sind stärker. Leichter Grad von Starre im linken.

26. März. Dieselben Erscheinungen wie am vorigen Tage.

27. März. Die beiden Hinterbeine zeigen starke Kontrakturen; es treten Erscheinungen von Tetanus an den Vorderbeinen, am Halse und im Rumpf auf. Wird der Hund gereizt, so zeigen sich allgemeine Kontrakturen.

28. März. Morgens finde ich ihn verendet.

Aus diesen meinen Experimenten ergibt sich, daß bei direkten Injektionen von Tetanustoxin ins Parenchym sehr kleine Dosen hinreichen, um Erscheinungen von schwerem Tetanus hervorzurufen, auf die der Tod folgt. Werden diese nämlichen Dosen von Gift Tieren von demselben Gewicht subkutan oder in den Kreislauf inokuliert, so folgen darauf nicht die geringsten Erscheinungen von Tetanus. Diese Tatsache ist meiner Ansicht nach eine der besten Beweise zu gunsten der Hypothese von dem Transport des Tetanustoxins vermittelst der Nerven.

Das Kaninchen, welches bekanntlich verhältnismäßig wenig empfänglich für das Tetanustoxin ist, wenn letzteres subkutan oder in den Kreislauf injiziert wird, ist sehr dafür empfänglich, wenn es in das Parenchym der Nerven injiziert wird.

Meyer und Ransom beobachteten, daß, um beim Hunde tödlichen Tetanus hervorzurufen, bei Injektion in die Nerven 5mal geringere Dosen per Gramm des Tieres genügten, als diejenigen, welche sie injizieren mußten, um dieselbe Wirkung durch Injektion von Tetanustoxin auf subkutanem Wege zu erreichen. Beim Kaninchen wurden durch Injektion einer 10mal geringeren Dosis von Toxin in die Nerven, als zur Erzeugung eines tödlichen Tetanus durch subkutane oder intravenöse Injektion erforderlich war, sehr schwere Erscheinungen von Tetanus mit Abkürzung des Inkubationsstadiums hervorgerufen. Die nämlichen Tatsachen ungefähr wurden bei Meerschweinchen beobachtet.

Das Resultat der Injektion in das Parenchym der Nerven ist von vielfachen Umständen abhängig: vor allem zeigt sich leicht ein Extravasat, wenn man die Injektion bei einem sehr dünnen, zarten Ast ausführt; die Injektionsmasse wird in der Nervenscheide aufgehalten, es findet eine Anhäufung von Leukocyten statt und man erzielt nicht eine energischere, sondern eine viel schwächere Wirkung. Dieselbe Tatsache nahm Burdach an, um die Erfolglosigkeit der Inokulation des Virus der Tollwut in den Nerven zu erklären, die er 5mal bei 7 inokulierten Hunden konstatiert hatte. Er nimmt an, wenn man das Virus der Tollwut einfach unter die Nervenscheide injiziere, so bewirke die injizierte virulente Flüssigkeit, daß eine große Menge von Phagocyten auswandere, welche die spezifischen Erreger der Tollwut verschlängen, verdauten und auf diese Weise den Organismus unempfänglich machten.

Di Vestea und Zagari beobachteten bei ihren Versuchen in Bezug auf die Uebertragung des Virus der Tollwut vermittelst der Nerven, daß, während beim Kaninchen die Inokulation in das Parenchym des Nerven ganz sicher mit der durch Trepanation bewirkten gleichen Wert hat, die Inokulation in die Nerven bei Hunden und Meerschweinchen keine konstante Wirkung zeigte, indem man bald positive, bald negative Resultate erhielt. Die Forscher schreiben diese erfolglosen Versuche hauptsächlich Mängeln der Technik zu, die unvermeidlich seien wegen der Kleinheit der Nerven beim Meerschweinchen und der in hervorragendem Grade faszikulösen Struktur des N. ischiadicus beim Hunde. Sie glauben mit vollem Recht, es könne vorkommen, daß die vermeintlich in die eigentliche Nervensubstanz geleitete Injektion wirklich in den Bindegewebshüllen verloren gehe.

Auch andere Momente können nach Meyer und Ransom auf den Ausgang der Injektion in die Nerven einen Einfluß ausüben. So erhielten sie bei Injektion einer tödlichen Dosis Toxin in den N. facialis eines Hundes nur eine schwache Wirkung, was um so auffallender erscheint, als beim Menschen der Gesichtstetanus in besonders schwerer Form verläuft.

XIV. Experimente von Eintauchen der Nerven in Tetanustoxin.

In der Absicht, den Transport des Tetanustoxins den Nervenstämmen entlang immer gründlicher zu untersuchen, dachte ich daran, nachdem ich die Untersuchungen hinsichtlich der direkten Inokulation des Toxins in die peripherischen Nerven durchgeführt hatte, die Resorption des Tetanusgiftes in der Weise zu untersuchen, daß ich die Nerven des lebenden Tieres eine mehr oder weniger lange Zeit hindurch in das Gift eintauchte und darin ließ. Dabei verfuhr ich auf folgende Weise: Ich isolierte den N. ischiadicus beim Meerschweinchen und Kaninchen auf der Strecke, die von der Incisura ischiadica bis zur Kniekehlengrube verläuft. Hierauf durchschnitt ich den Nerven entsprechend der letzteren durch einen Schnitt mit der Schere und führte ihn in eine kleine Phiole hinein, die ich durch zwei Stiche an der Operationswunde befestigte. Alsdann brachte ich den Kontentionsapparat, auf dem das Tier gehörig befestigt war, in vertikale Lage und füllte vermittelst einer mit einer feinen Nadel versehenen Pravazschen Spritze die kleine Phiole bis zu einer gewissen Höhe mit Toxin, so daß der in die Phiole eingeführte Nerv nur auf einer gewissen Strecke darin eintauchte. Beim Hineinbringen des Tetanustoxins in die kleine Phiole wandte ich die größte Sorgfalt an, damit auch nicht die geringste Spur des Toxins in die umgebenden Gewebe sich ergieße. Auf diese Weise wußte ich ganz sicher, daß der Nerv allein in Beziehung zum Toxin trat, eine Berührung mit den anderen Geweben aber absolut ausgeschlossen war.

Das Stück des Nerven ließ ich verschiedene Zeit hindurch im Tetanustoxin eingetaucht, zog es dann heraus, und nachdem ich es sorgfältig mit Löschpapier abgetrocknet oder auch nachdem ich das kleine in die Flüssigkeit eingetauchte Stück abgeschnitten hatte, brachte ich es wieder an seine Stelle, entfernte die kleine Phiole und vernähte die Operationswunde.

Auf diese Weise führte ich verschiedene Experimente an Meerschweinchen und Kaninchen aus, deren N. ischiadicus entweder unverletzt oder zu verschiedenen Zeiten abgeschnitten war. Hier berichte ich über die wichtigsten Experimente.

Meerschweinchen XIX. Gewicht 425 g.

14. April 1904. Ich isoliere den linken N. ischiadicus und lasse ihn nach der soeben beschriebenen speziellen Methode eine Stunde lang in Tetanustoxin eingetaucht hängen. Nach Verlauf dieser Zeit durchschneide ich den N. ischiadicus in gleicher Höhe mit der Stelle, an der er in die kleine Phiole eindringt. Dieses abgeschnittene Stück vom Ischiadicus, das 1 cm lang ist, umfaßt den Teil des Nerven, der in das Toxin eintauchte, und den Teil, der sich oberhalb der Flüssigkeit befand. Ich bringe den N. ischiadicus in seine Lage zurück und vernähe die Wunde Das abgeschnittene Stück des N. ischiadicus wird sorgfältig mit Löschpapier abgetrocknet und nach Entfernung der Scheide unter die Haut einer Maus geeimpft, die während der folgenden Tage sehr deutliche Erscheinungen von lokalem Tetanus darbietet. Das Meerschweinchen zeigt an dem der Operation folgenden Tage (15. April) eine merkliche Kontraktur des linken Hinterbeines, und diese Kontraktur prägt sich noch deutlicher aus während der folgenden Tage. Es verendet am 20. April unter Erscheinungen von allgemeinem Tetanus.

Kaninchen VIII. Gewicht 1,950 kg.

15. April 1904. Nach der gewohnten Methode bringe ich den N. ischiadicus in Berührung mit dem Tetanustoxin. Dauer des Eintauchens 1 Stunde. Ich ziehe den Nerv aus der kleinen Phiole heraus, schneide ein $1^1/_2$ cm langes Stück davon ab, nachdem ich es mit Löschpapier abgetrocknet habe und impfe es einer Maus unter die Haut ein. Ich bringe den Nervenstamm wieder in seine Lage und vernähe die Wunde.

Die Maus zeigte nur einen sehr leichten lokalen Tetanus; ebenso das Kaninchen. Beide überlebten.

Kaninchen IX. Gewicht 1,830 kg.

16. April 1904. Dieselbe Behandlung wie beim vorigen Kaninchen, nur wird die Eintauchung des Nerven in das Toxin 2 Stunden lang fortgesetzt. Ein so in Berührung mit dem Toxin gehaltenes Stück des N. ischiadicus ruft bei der Maus die deutlichsten Erscheinungen von lokalem Tetanus hervor. Das Kaninchen zeigt während der folgenden Tage Erscheinungen von Tetanus und verendet am 21. April.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß der in Tetanustoxin eingetaucht gehaltene N. ischiadicus das Toxin schnell aufnimmt, so daß ein Stück von ihm sich als ziemlich giftig für die Maus erweist. Das Meerschweinchen erliegt den Folgen einer solchen Behandlung. Um beim Kaninchen dieselbe Wirkung zu erreichen, muß man die Berührung des Nerven mit dem Toxin länger andauern lassen. Diese Tatsache findet vielleicht ihre Erklärung in der anderen, auf die ich später zurückkommen werde, daß der N. ischiadicus des Kaninchens im Vergleich zu dem des Meerschweinchens eine geringere Affinität zum Tetanustoxin besitzt.

Aus diesen Experimenten ergibt sich außerdem als augenscheinliche Tatsache, daß der Transport des Tetanustoxins zu den Nervenzentren den Nervenstämmen entlang erfolgt.

Kaninchen X. Gewicht 1,785 kg.

14. April 1904. Durchschneiden des N. ischiadicus an der Incisura ischiadica.

21. April 1904. Ich isoliere den degenerierten Nerv und bringe ihn auf die weiter oben beschriebene Weise in Berührung mit dem Tetanustoxin. Dauer der Berührung 2 Stunden; alsdann schneide ich ein Stück des Nerven heraus, trockne es ab mit Löschpapier und impfe es subkutan einer Maus ein. Letztere zeigt während der folgenden Tage keine Erscheinung von Tetanus. Der übrige Teil des Nerven wird wieder an seine Stelle gebracht und die Wunde vernäht. Das Kaninchen zeigt nicht die leichteste Erscheinung von Tetanus und überlebt.

Kaninchen XI. Gewicht 1,690 kg.

14. April 1904. Durchschneiden des linken N. ischiadicus an der Incisura ischiadica.

29. April 1904. Der infolge des Durchschneidens degenerierte Nerv zeigt sich nach 15 Tagen, als er mit dem Tetanustoxin in Berührung gebracht wird, als nicht fähig, es zu resorbieren.

Kaninchen XII. Gewicht 1,720 kg.

Der linke N. ischiadicus wird an der Incisura ischiadica durchschnitten und nach 21 Tagen mit seinem abgeschnittenen distalen Ende in das Tetanustoxin eingetaucht gehalten.

Das Kaninchen zeigt während der folgenden Tage keine Erscheinung von Tetanus.

Aus diesen Experimenten hinsichtlich des Eintauchens von Nerven, die infolge ihrer Trennung vom Stamm degeneriert sind, in Tetanustoxin ergibt sich auf noch augenscheinlichere Weise als aus der anderen Reihe der früher besprochenen Experimente bezüglich der Injektion des Toxins in die Wade in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Durchschneidung des N. ischiadicus derselben Seite die Bedeutung der Achsencylinder für den Transport des Tetanustoxins zu den Rückenmarkszentren.

XV. Subkutane oder intravenöse Injektion von Tetanustoxin nach vorheriger Injektion von Tetanusantitoxin in die Nerven.

Nachdem durch die vorhergehenden Experimente die Annahme gerechtfertigt war, daß das Tetanustoxin, um zu den Nervenzentren zu gelangen, den Nervenbahnen folgt, wollte ich sehen, ob es mir, wenn ich in einen Nervenstamm Tetanusantitoxin injizierte, und hierauf das Toxin, entweder in den Kreislauf oder subkutan, möglich wäre, die Nervenzentren zu schützen, in die der Nervenstamm einmündete.

Zu diesem Zweck schritt ich zu folgenden Experimenten:

Kaninchen XIII. Gewicht 2,180 kg.

16. April 1904. Nachdem ich den rechten N. ischiadicus bloßgelegt habe, injiziere ich einige Tropfen Tetanusantitoxin aus dem serotherapeutischen Institut zu Mailand. Um die Möglichkeit zu verhindern, daß etwas Antitoxin sich in die Gewebe ergieße und darin seine neutralisierende Wirkung auf das Toxin ausübe, isoliere ich den Nerv wohl, bringe eine Brücke von Pergamentpapier darunter an und verschließe nach Ausführung der Injektion die kleine Wunde mit Kollodium, um zu verhindern, daß das Antitoxin zurückfließt. Sofort danach wurde in jede Wade $^1/_4$ ccm Tetanustoxin injiziert.

17. Juni 1904. Ich beobachtete keine Erscheinungen von Tetanus.

18. Juni. Im linken Bein macht sich eine deutlich ausgeprägte Kontraktur bemerkbar. Das rechte Bein ist vollkommen frei, schlaff, und erhält sich auch in diesem Zustand während der folgenden Tage.

20. Juni. Starre der Vorderbeine, des Halses und des Rumpfes. Das rechte Hinterbein zeigt sich noch immer frei.

22. Juni. Verendet unter Erscheinungen von allgemeinem Tetanus; dennoch zeigt sich im rechten Hinterbein nicht das geringste Anzeichen einer Kontraktur.

Bei einem weiteren Kaninchen (XIV), das gerade so behandelt wurde wie das vorige, zeigte sich im rechten Vorderbein, an dem der Injektion von Toxin die von Antitoxin in den entsprechenden N. ischiadicus vorausgegangen war, im Gegensatz zum vorigen Falle eine leichte Kontraktur, während die Kontraktur der anderen Glieder sehr deutlich ausgeprägt war. Diese Tatsache muß meines Erachtens daraus erklärt werden, daß die Injektion von Antitoxin in diesem Falle nicht in das eigentliche Parenchym hinein gelang wie in dem vorhergehenden Falle. Auf jeden Fall war, wie schon bemerkt, die Kontraktur im Gliede, dessen N. ischiadicus durch Antitoxin geschützt war, eine minimale.

Kaninchen XV. Gewicht 2,430 kg.

17. Juni 1904. Ich lege die Jugularis interna bloß und injiziere 1 ccm Tetanustoxin. Nach einer Stunde lege ich die N. ischiadici und crurales auf beiden Seiten bloß und inokuliere in dieselben Tetanusantitoxin. Während die Injektion in die N. ischiadici gelingt, ist dies bei den N. crurales nicht der Fall wegen ihrer Dünnheit.

18. Juni 1904. Hochgradige Kontraktur in den Muskeln des Halses, Rumpfes und der Vorderbeine. Die Hinterbeine sind etwas starr.

19. Juni vorm. Ich finde das Kanichen verendet, Vorderbeine vollkommen steif, starke Kontraktur der Muskeln des Halses, Rückens und Bauches. In den Hinterbeinen bemerkt man nur einen leichten Grad von Kontraktur.

Kaninchen XVI. Gewicht 2,345 kg.

18. Juni 1904. Ich injiziere in die Jugularis interna 1 ccm Tetanustoxin; nach 2 Stunden lege ich die N. ischiadici sowie die N. femorales bloß und injiziere Antitoxin in dieselben. Die nämlichen Tatsachen wie die beim vorigen Kaninchen beobachteten, d. h. während der folgenden Tage Auftreten von tetanischen Kontrakturen in den Muskeln des Rumpfes, Halses und der Vorderbeine. Im Hinterteil leichter Grad von Kontraktur, vielleicht etwas deutlicher ausgeprägt als im vorhergehenden Falle. Das Kaninchen verendet in der Nacht vom 20. zum 21. Juni.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß, wenn man den N. ischiadicus sozusagen durch Antitoxin sperrt und hierauf Tetanustoxin in die Wadenmuskeln injiziert, der Zutritt des Toxins selbst zu den entsprechenden Nervenzentren verhindert wird und keine Erscheinungen von Tetanus in den durch den geschützten Nervenstamm innervierten Muskeln beobachtet werden. Injizierte ich Toxin in den Kreislauf und Antitoxin in die Hauptnervenstämme der hinteren Glieder, so gelang es mir nicht, die Muskeln der Glieder selbst von Tetanuserscheinungen vollkommen frei zu erhalten, wahrscheinlich weil es mir, wie oben erwähnt, wegen der Dünnheit des N. cruralis durch die Injektion nicht gelang, ihn hinlänglich durch Antitoxin zu verschanzen und es sich so nicht vermeiden ließ, daß etwas Toxin zu den entsprechenden Nervenzentren gelangte.

Uebrigens ist darauf hinzuweisen, daß Meyer und Ransom bei ähnlichen Versuchen auch in dem durch Antitoxin geschützten Gliede erst spät einen mäßigen Tetanus auftreten sahen, was sie durch die Tatsache erklären, daß das Antitoxin nicht von den Nerven festgehalten werde und daß eine gewisse Dosis Toxin, die nach und nach zu ihnen gelange, die Nervenbahn wieder frei finde.

Wie aber das Tetanustoxin, wenn man es in den Kreislauf injiziert, gleichmäßig überall verteilt und stark verdünnt wird, so braucht es auch längere Zeit, um sich in den Nerven zu sammeln; während dieser Zeit kann wenigstens ein Teil des Antitoxins aus dem Nervenstamm verschwunden sein, und es ist möglich, daß der dort zurückgebliebene Teil nicht dazu hinreicht, durch seine Berührung das dort anlangende Toxin zu neutralisieren.

Meyer und Ransom gelang es, die Hinterbeine einer Katze, der Tetanusantitoxin in die N. femorales und ischiadici injiziert wurde, 4 bis $4^1/_2$ Stunden nach der Injektion von Tetanustoxin in die Vena jugularis von Tetanuserscheinungen vollkommen frei zu erhalten. Aber auch der Umstand, daß man in den durch Antitoxin geschützten Gliedern Tetanuserscheinungen auftreten sah, vermindert durchaus nicht den Wert der Beobachtung und ihre Bedeutung zu gunsten des Transports des Tetanustoxins durch die Nerven; wenn man die letzteren rechtzeitig durch Antitoxin verschanzt, so verspüren die entsprechenden Ganglien des Rückenmarkes nichts von der Wirkung des Tetanusgiftes. Man könnte einwenden, das Antitoxin sei in den Nerven dem Toxin nicht begegnet, sondern es sei vermittelst der Lymphgefäße der Nerven in den subarachnoidalen Raum sowie in die Zentren des Rückenmarkes gelangt und habe dort das durch das Blut beförderte Toxin neutralisiert. Man bedenke aber, daß die nicht geschützten Teile von Tetanus befallen wurden und daß die eingeführte Menge von Antitoxin nicht für eine allgemeine Neutralisation des Giftes in die Flüssigkeit der Gewebe hingereicht hätte.

XVI. Nerveninjektion von Tetanustoxin nach Durchschneidung des Rückenmarkes.

Um zu untersuchen, ob das einem Nerven eingeimpfte Tetanustoxin wirklich keinen anderen Weg der Uebertragung in die Nervenzentren zur Verfügung habe als die Substanz des Nerven selbst, wollte ich sehen, ob es nach Durchschneidung des Rückenmarkes gelänge, die Wirkungen des Toxins auf das mit dem Sitz der Inokulation in Verbindung stehende Segment des Rückenmarks zu beschränken und ob es sich verhindern ließe, daß das Tetanustoxin sich in den oberen Gegenden des Rückenmarks ausbreite.

Zu diesen Experimenten verwendete ich kräftige Hunde, da durch die weiter oben erwähnten Experimente von Di Vestea und Zagari bekannt ist, welche Schwierigkeiten es bereitet, Kaninchen nach einer so schweren Operation einige Tage lang am Leben zu erhalten. Oft entstehen in den durch die Resektion des Rückenmarkes gelähmten Gliedern Wunden durch Dekubitus, auf die septikämische Erscheinungen folgen können. Außerdem treten infolge Lähmung der Blase und eventuell des Rectums katarrhalische Erscheinungen in den Exkretionswegen auf, die der Ausgangspunkt von Vergiftungen durch Bakterien werden[1]).

Um diese schweren Uebelstände zu vermeiden, muß man die Tiere mit der größten Sorgfalt behandeln und sie in größter Reinlichkeit erhalten. Um zu verhindern, daß die beiden Stümpfe des Markes miteinander in Berührung kämen, goß ich, nachdem ich ein kleines Stück des Rückenmarkes durchschnitten hatte, etwas hartes Paraffin in den Zwischenraum.

Hund II. Gewicht 10 kg.

15. März 1904. Chloroformnekrose und subkutane Morphiuminjektion. Nach vorausgegangener sorgfältiger Desinfektion lege ich die Wirbelbogen des 2. und 3. Lendenwirbels bloß und mache mit Hilfe des Skalpells eine Oeffnung; durch diese hindurch zerstöre ich die Substanz des Rückenmarkes auf einer Länge von 1 cm und gieße in den Zwischenraum bei 60° geschmolzenes Paraffin. Doppelte Naht der Muskeln und der Haut. Die Operation verläuft ohne Zwischenfall. Der Hund zeigt sich sehr niedergeschlagen, als er sich von der Wirkung des Chloroforms erholt hat. Das Hinterteil ist vollständig gelähmt und der Hund schleppt sich mit großer Mühe auf den Hinterbeinen weiter.

16. März. Ich lege die beiden N. ischiadici bloß und injiziere in ihr Parenchym ca. $^1/_4$ ccm Tetanustoxin per Nerv.

18. März. Es beginnt sich ein gewisser Grad von Kontraktur in den Hinterbeinen zu zeigen.

19. März. Die Kontraktur in den Hinterbeinen hat sich sehr deutlich ausgeprägt. Vorderbeine, Muskeln des Halses und Rumpfes vollkommen frei.

19. März abends. Der Hund ist sehr niedergeschlagen. Auch zeigt sich die Kontraktur in den Hinterbeinen noch schärfer ausgeprägt. Nichts Bemerkenswertes an den Vorderbeinen und im vorderen Teile des Rumpfes.

20. März. Ich finde den Hund verendet.

Hund III. Gewicht 6,500 kg.

25. März. Vermittelst derselben Technik, wie ich sie im vorigen Falle ausgeübt habe, schneide ich das Rückenmark durch in der Höhe zwischen dem 3. und 4. Lendenwirbel.

26. März. Nachdem ich die N. ischiadici bloßgelegt habe, injiziere ich in ihr Parenchym Tetanustoxin wie oben.

28. März. Leichte Kontraktur in den Hinterbeinen; keine in den Vorderbeinen und im Halse.

29. März. Die Kontraktur der Hinterbeine ist bedeutend gesteigert. Der Hund ist sehr niedergeschlagen; er frißt wenig und es gehen diarrhoische Stühle ab.

---

[1]) Di Vestea e Zagari, Nuove ricerche sulla rabbia. (Giornale internazionale delle scienze mediche. Anno XI. 1889. p. 101.)

30. und 31. März. Die Hinterbeine vollkommen starr. Die Diarrhöe hält an und die Faeces sind blutig gefärbt. Vorderbeine und Kopf vollständig frei.

1. April. Ist verendet.

Bei der Sektion zeigt sich der Befund einer akuten Enteritis.

Hund IV. (Kontrolltier.) Gewicht 5,000 kg.

26. März 1904. Ich isoliere die N. ischiadici und injiziere in sie Tetanustoxin wie oben.

27. März. Leichte Kontraktur am rechten Hinterbeine; deutlicher ausgeprägte Kontraktur am linken Hinterbein. Der Hund geht hinkend herum. Das linke Hinterbein ist zurückgezogen, die Vorderbeine sind frei.

28. März. Die Kontraktur im rechten Hinterbein ist stärker geworden; am linken besteht die Kontraktur unverändert weiter.

29. März. Unveränderter Zustand.

30. März. Die Tetanuserscheinungen haben sich auch auf die Vorderbeine ausgedehnt. Der Hund liegt auf dem Boden und wird jeden Augenblick vom Tetanus geschüttelt, namentlich wenn er gereizt wird. Der Kopf wird ausgestreckt getragen. Die Vorderbeine sind steif.

31. März. Allgemeiner Tetanus. Das Tier ist sehr niedergeschlagen und frißt nichts.

1. April. Wird verendet aufgefunden.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß man vermittelst der Durchschneidung des Rückenmarkes das Aufwärtssteigen des Tetanustoxins zu den oberen Nervenzentren verhindern kann, so daß, während bei dem als Kontrolltier verwendeten Hunde mit unverletztem Rückenmark auf die Injektion von Tetanustoxin in die N. ischiadici zuerst lokaler, d. h. auf den Hinterkörper beschränkter Tetanus folgt, dem nach und nach Tetanuserscheinungen des Rumpfes, Halses und der Vorderbeine folgen, bei dem vermittelst Durchschneidung des Rückenmarkes in der Lendengegend operierten Hunde die Tetanuserscheinungen strenge auf die Hinterbeine lokalisiert bleiben.

Di Vestea und Zagari führten bei ihren Untersuchungen bezüglich der Uebertragung der Tollwut auf dem Nervenwege Experimente aus vermittelst Durchschneidung des Rückenmarkes, nachdem sie vorher das Virus der Tollwut in den N. ischiadicus inokuliert hatten. Sie konnten in einigen Fällen beobachten, daß die Durchschneidung des Rückenmarkes den Durchgang des Virus der Tollwut zum oberen Teil des Markes und zum Gehirn nicht verhinderte; diesen Umstand erklärten die Autoren durch die Tatsache, daß die Stümpfe des Markes bisweilen einander berühren könnten, da sie in dieser Hinsicht begünstigt würden durch die Krümmung der Wirbelsäule, die bei der Abtragung eines halben Wirbelbogens, wie auch infolge der Unruhe des Tieres fortbestehe. Als sie aber ihre Versuche wiederholten und bessere experimentelle Bedingungen dabei benutzten, d. h. die vollständige Trennung der Stümpfe des in seiner Leitung unterbrochenen Rückenmarkes sicher durchführten, konnten Di Vestea und Zagari mit vollkommener Sicherheit behaupten, daß die Durchschneidung des Rückenmarkes ein wirksames Mittel sei, um den Durchgang des Virus der Tollwut zu hemmen. Auf den Einwand, den man erheben könnte, daß nämlich die Uebertragung des Virus der Tollwut durch die Lymphräume der Nerven erfolgen könne, da bekanntlich in den letzteren die Lymphwege ein vollkommen (Key und Retzius) oder beinahe (Ranvier) den Lymphgefäßen des umgebenden Bindegewebes gegenüber isoliertes System bildeten und daß dieses System gewöhnlich nur mit den eigentlichen lymphatischen Lakunen des Zentralnervensystems, mit dem Spatium subdurale und den Spatia subarachnoidea in Verbindung stehe, antworten dieselben Autoren, von ihrem Gesichtspunkte aus betrachtet seien die beiden Ansichten gleichwertig, wenn man von einem Lymphsystem spreche, das gar nicht mit den gewöhnlichen Lymphgefäßen des Bindegewebes in Verbindung stehe, und die Tatsache bleibe erwiesen, daß nach Durchschneidung des Rückenmarkes in seiner Länge das Virus keinen anderen Weg findet, auf dem es weiter vordringen kann.

Diese Beobachtungen von Di Vestea und Zagari lassen sich vollständig dem anpassen, was ich in Bezug auf die Weiterbeförderung des Tetanustoxins zu den Nervenzentren vermittelst der peripherischen Nerven dargelegt habe; nur halte ich es für angezeigt, darauf hinzuweisen, daß es wünschenswert gewesen wäre, daß die von mir der Durchschneidung des Rückenmarkes ausgesetzten Hnnde längere Zeit hindurch überlebt hätten, um meinen diesbezüglichen Untersuchungen den absoluten Wert zu verleihen, den die Untersuchungen von Di Vestea und Zagari besitzen.

XVII. Tetanusgiftinjektion in die enervierten Muskeln.

Marie und Morax begründen die Hypothese von dem Transport des Tetanustoxins zu den Nervenzentren durch die Nerven durch zwei Haupttatsachen: 1) Die Injektion einer Dosis Toxin in den N. ischiadicus eines Kaninchens, die nicht dazu hinreicht, Tetanuserscheinungen auf subkutanem Wege oder auf dem Wege des Blutes zu erregen, folgen Tetanuserscheinungen und Tod; 2) durchschneidet man bei einem Kanichen den 2. N. cervicalis auf einer Seite so nahe als möglich an seiner Austrittsstelle, lähmt auf diese Weise das vordere Glied derselben Seite vollständig und injiziert nach und nach, wenn die Operationswunde vernarbt ist, Tetanustoxin in einen der Muskeln des gelähmten Beines, so erhält man keine Tetanuserscheinungen.

Während ich durch meine Untersuchungen die erste Tatsache in vollem Umfange bestätigen konnte, habe ich nicht einmal einen Versuch zur Bestätigung der zweiten unternommen, weil ich nicht einsehe, wie man vermittelst der Durchschneidung eines einzigen Nerven, des 2. N. cervicalis, ein vorderes Glied vollständig lähmen kann. Um diese Wirkung zu erreichen, müßte man alle Aeste des Plexus brachialis durchschneiden, der beim Kaninchen aus dem 4., 5., 6., 7. und 8. N. cervicalis und dem 1. N. dorsalis besteht. Allerdings stellte ich in diesem Sinne einige Experimente an, mußte mich jedoch sehr bald davon überzeugen, daß die Verletzung infolge der Operation zu schwer war, denn gewöhnlich verendeten die Kaninchen nach 1—2 Tagen.

Alsdann versuchte ich das Problem auf anderem Wege zu lösen; ich durchschnitt nämlich die Nerven des hinteren Beines und suchte letzteres mehr oder weniger vollständig zu lähmen. Zu diesem Zwecke führte ich die folgenden Experimente aus.

Kaninchen XVII. Gewicht 1,950 kg.

12. Juni 1904. Ich durchschneide den N. ischiadicus und den N. cruralis auf der rechten Seite bei ihrem Austritt aus der Wirbelsäule. Ich inokuliere $^1/_2$ ccm Tetanustoxin in das rechte Bein.

14. Juni. Rechter Schenkel steif. Bein unterhalb des Knies vollkommen frei.

15. Juni. Dieselben Erscheinungen wie am vorhergehenden Tage.

16. Juni. Es beginnen Erscheinungen von allgemeinem Tetanus aufzutreten; das rechte Bein vom Knie abwärts bleibt fortwährend frei.

17. Juni. Das Kaninchen zeigt Erscheinungen von schwerem Tetanus. Es verendet um 4 Uhr 45 Min. nachmittags. Das rechte Bein vom Knie abwärts hat sich bis zum Ende frei erhalten.

Kaninchen XVIII. Gewicht 1,890 kg.

12. Juni 1904, 9 Uhr vorm. Durchschneidung des rechten N. ischiadicus und cruralis wie oben. Injektion von Tetanustoxin in beide Beine.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

13. Juni 5 Uhr nachm. Es beginnt sich ein leichter Grad von Starrheit im linken Hinterbein bemerkbar zu machen.

14. Juni. Starke Kontraktur des linken Hinterbeines. Im rechten Hinterbeine beträchtlicher Grad von Starrheit des Schenkels; unterhalb des Knies ist das Bein vollkommen frei und hält sich so während der folgenden Tage.

Das Kaninchen verendet am 16. Juni.

Kaninchen XIX. Gewicht 1,975 kg.

13. Juni 9 Uhr 30 Min. vorm. Ich durchschneide den N. ischiadicus, den cruralis und den obturatorius auf der rechten Seite bei ihrem Austritt aus der Wirbelhöhle. Unmittelbar nachher inokuliere ich $^1/_4$ ccm Tetanustoxin auf der operierten Seite und ebensoviel auf der gesunden Seite.

Während der folgenden Tage zeigt das Kaninchen Erscheinungen von allgemeinem Tetanus; nur das rechte Hinterbein erhält sich in seinem ganzen Umfang vollkommen frei und es zeigt sich darin niemals der geringste Grad von Kontraktur.

Das Kaninchen verendet am 19. Juni.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß in den vermittelst Durchschneidung der entsprechenden Nervenstämme vollkommen enervierten Muskeln infolge der Injektion von Toxin keine Erscheinungen von Tetanus auftreten. Wenn wir den N. ischiadicus und den N. cruralis auf einer Seite so hoch als möglich durchschneiden, so berauben wir nur den unterhalb des Knies gelegenen Teil dieses Gliedes vollständig der Innervation. Auch die Schenkelmuskeln werden, obschon sie infolge dieser Operation größtenteils nicht mehr in Verbindung mit den Nervenzentren stehen, nicht vollständig ihrer Nerven beraubt, und diese wenigen Fasern genügen, um das Tetanustoxin zu den entsprechenden Nervenzentren zu leiten und Kontrakturen im Schenkel selbst zu erregen; nur treten die Kontrakturen etwas später auf.

Ein ganzes Glied kann nur dann vollständig von den Tetanuserscheinungen verschont bleiben, wenn alle motorischen Nerven desselben durchschnitten werden, was man vermittelst Durchschneidung des N. ischiadicus, des cruralis und des obturatorius erreicht. Nur wenn man auf diese Weise verfährt, findet das Tetanustoxin keine Möglichkeit, zu den Rückenmarkszentren zu gelangen, welche diesem Gliede entsprechen, daß stets von Tetanus frei bleibt. Auf dem Blutwege aber verbreitet sich das Toxin im ganzen Organismus und wird vermittelst der unverletzten Nervenbahnen zu den entsprechenden Nervenzentren geleitet; daher Tetanus in den anderen Gliedern, in denen die Innervation normal ist, im Rumpf und im Hals.

Diese Experimente besitzen, wie mir scheint, einen entsprechenden Wert für die Hypothese von dem Transport des Tetanustoxins zu den Nervenzentren durch die Nerven.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über bacilläre Dysenterie.

[Aus dem Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Dr. L. Kamen).]

Von Dr. **R. Doerr,** k. und k. Regimentsarzt in Wien.

(Schluß.)

Weder die von mir aus der Brucker und Krakauer Epidemie gezüchteten Kulturen, noch der Bacillus von Shiga, ein Kruse-Stamm von Jürgens, von Müller oder die Stämme aus Döberitz zeigen ein derartiges Verhalten. Dementsprechend liefern auch alle Agarkulturen von Flexner-Stämmen (Flexner, Jürgens, Wien) und von allen Shiga-Stämmen, bis auf die Kruseschen Originalkulturen, mit 0,85-proz. NaCl-Lösung emulgiert, homogene Suspensionen, in denen spontane Häufchenbildung nicht eintritt und die auch nach 24 Stunden sich nicht klären. Die Kruseschen Originalstämme, wenigstens die 2, die ich prüfen konnte, zeigen dagegen in aus Agarkulturen hergestellten Kochsalzemulsionen eine große Neigung zu spontaner Sedimentierung und unter der Einwirkung selbst stark verdünnter Normalsera auch Krümelbildung, so daß bei der Kolleschen Methode der makroskopischen Agglutination sowohl als auch bei Benützung von Bouillonkulturen zur mikroskopischen Agglutination leicht Irrtümer entstehen können. Dies ist auch der Grund, warum ich diese sonst nebensächlichen Verhältnisse so ausführlich erörtert habe, da wenigstens bis jetzt die Agglutination nicht nur für die Frage nach der ätiologischen Bedeutung der Ruhrstäbchen, sondern auch für die Artgleichheit der verschiedenen Stämme entscheidend ist.

In Peptonwasser bilden die Wiener Stämme kein Indol, auch nicht nach längerem Aufenthalt im Brütofen. Ein Stamm von Jürgens, einer von Flexner (von Král bezogen) und die Stämme von Leiner bilden deutlich Indol, während die von Jürgens angestellte Prüfung bei seinem und dem Králschen Flexner-Stamm negativ ausfiel.

Die Indolbildung ist, wie lange bekannt, so variabel und der Ausfall der Reaktion derart von den verwendeten Reagentien abhängig [besonders von der Peptonsorte[1])], daß man wohl in Hinkunft von der Verwendung dieses Merkmales zur Charakterisierung der Art absehen könnte, um so mehr, als längere Zeit fortgezüchtete Coli-Rassen, die in der 1. Generation noch starke Indolproduktion nach 24 Stunden zeigten, später wenig oder kein Indol auch bei Verwendung der gleichen Reagentien aufweisen.

Auf schrägem Agar ist das Wachstum nicht charakteristisch, aber entschieden üppiger als bei den Bacillen der Shiga-Gruppe. Die Kulturen zeigen einen deutlichen spermaartigen Geruch, wie übrigens auch oft die Stühle, eine Tatsache, die von mehreren Beobachtern hervorgehoben wurde.

Auf Drigalski-Agar sind die Kolonieen klein, durchsichtig, tautropfenartig, blau, und zeigen bei schwacher Vergrößerung in jugendlichem Zustande (24 Stunden) eine deutliche diktyodrome Zeichnung, die vollständig an das Aussehen junger Typhuskolonieen auf der Gelatine erinnert.

---

[1] Im vorliegenden Falle wurde Pepton Witte verwendet.

Traubenzucker wird nicht vergoren, Neutralrot bleibt unverändert. Im Gärungskölbchen bleibt häufig das Wachstum im anaëroben Schenkel aus, an dessen Beginn die getrübte Flüssigkeit mit einer scharfen Linie absetzt.

In die Barsiekowschen Flüssigkeiten verimpft, bleibt das Milchzuckerröhrchen blau und ziemlich klar, das Traubenzuckerröhrchen wird gerötet und schwach opalisierend, doch erfolgt keine Koagulation des Kaseïns, das Mannitröhrchen wird nur gerötet und leicht getrübt. Diese Prüfung mit Hilfe der 3 leicht herzustellenden Nährböden möchte ich nochmals empfehlen; sie ermöglicht zunächst die Feststellung, ob es sich um Ruhrstäbchen überhaupt handelt, und das Mannitröhrchen von mir und später von Hetsch angegeben, gestattet als zweckmäßiger Ersatz des Lenzschen Mannitagars auch rasch eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose, ob der gefundene Bacillus in die Shiga- oder Flexner-Gruppe einzureihen ist. Mit Sicherheit lassen sich diese Entscheidungen erst mit Hilfe eines hochwertigen Immunserums und, wie noch gezeigt werden soll, durch das Experiment am Kaninchen treffen. In einer ersten Mitteilung hatte ich mich allerdings auf Grund der Beobachtungen in Bruck (1902) und vergleichender Prüfungen der verschiedensten an anderen Orten kultivierten Ruhrstämme auf den Standpunkt gestellt, daß das kulturelle Verhalten gegen die 3 Zuckerarten und Nutrose als Ersatz der Agglutinationsprüfung fungieren könne, der sehr willkommen wäre einerseits der Einfachheit wegen, andererseits weil Sera, ob in trockenem oder flüssigem Zustande konserviert, ihre agglutinatorische Kraft ganz oder teilweise einbüßen und die Herstellung frischer Prüfungssera immerhin mehrere Wochen erfordert. In der neueren Dysenterieliteratur finden sich auch keine Mitteilungen, die mich zwingen könnten, wenigstens bezüglich der Kruse-Gruppe, diesen Standpunkt zu verlassen. Wohl aber habe ich in Krakau sowohl als in Wien Stämme aus dysenterischen Stühlen kultiviert, deren kulturelles und biologisches Verhalten mich bestimmt, der Prüfung mit den Barsiekowschen Flüssigkeiten nur einen provisorischen Wert zu vindizieren und die Entscheidung der Agglutinabilität durch hochwertige Immunsera und dem Tierexperiment zu reservieren.

Auf sauren Kartoffeln ist das Wachstum typhusähnlich, die Oberfläche der Kartoffel erscheint nur feucht, ein Bakterienrasen ist nicht sichtbar. Doch variiert das Wachstum bei Flexner sowohl als Kruse-Stämmen sehr und erscheint bei anderen Kartoffeln ein gelblich-weißer, ja sogar gelbbräunlicher Rasen.

Das Wachstum auf Gelatine habe ich bei einer sehr großen Reihe von verschiedenen Dysenteriebacillen beider Gruppen geprüft und mit den Gelatinekolonieen zahlreicher Typhus- und Coli-Stämme verglichen. Dieser Punkt war ja von jeher kontrovers und erschien es aus diesem Grunde zweckmäßig, gleichzeitig und unter Verwendung des nämlichen Nährbodens mit den bisher bekannten Stämmen neue Untersuchungen vorzunehmen. Es zeigte sich, daß Unterschiede zwischen den bekannten Flexner-Stämmen nicht bestehen. Alle zeigten weinblattähnliche Formen (nach 48 Stunden bei 22° C), etwas größer als gleichaltrige Typhus- und kleiner als Coli-Kolonieen, zarter und transparenter als letztere; unter dem Mikroskope erschien die Kolonie gelblich, das Zentrum gelblich-braun, der Rand farblos, vielfach gebuchtet; die netzläufige Zeichnung war sehr undeutlich ausgeprägt.

Bei Kruse-Shiga-Stämmen ist das Verhalten entweder identisch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

mit dem geschilderten oder es ist (Kruse, Müller) die Blattrippenzeichnung mehr ausgeprägt, so daß die Ansiedelungen unter dem Mikroskope typhusähnlicher erscheinen.

Die Pathogenität für Versuchstiere verhielt sich bei den in Wien gezüchteten Stämmen ähnlich wie bei den Stämmen von Jürgens und Flexner und wies auffallende, diagnostisch sehr wohl verwertbare Differenzen gegenüber den Kruse-Shiga-Stämmen auf. Weiße Mäuse gingen bei intraperitonealer Injektion von 0,3—0,5 Oesen lebender, 24-stündiger Agarkultur irgend eines Flexner-Stammes nach 18—24 Stunden ein und zeigten reichliche Bacillen in dem spärlichen, klebrigen Peritonealexsudat. Das Herzblut war steril oder enthielt nur wenig Keime der injizierten Art.

Meerschweinchen (200—250 g) gingen erst bei Dosen von 3—5 Oesen (intraperitoneal) nach 24 Stunden ein, jedoch nicht regelmäßig; bisweilen waren die Tiere am nächsten Tage schwer krank, erholten sich jedoch auffallend rasch und überlebten den Eingriff. Weder bei den Flexnerschen noch bei den Wiener Stämmen oder dem von Jürgens ließ sich eine Konstanz der Wirkung oder eine Steigerung der Virulenz durch Passage erzielen trotz zahlreicher Versuche. Manches Tier verendete nach 2 Oesen, manches überlebte die Injektion von 5 Oesen, und diese Abhängigkeit der Wirkung von der Individualität der Tiere trat bei jeder Versuchsreihe immer wieder in Erscheinung. Die Sektion ergab bei den verendeten Meerschweinchen eine Peritonitis mit sehr reichlichem. serösem, bisweilen leicht hämorrhagischem Exsudat, in dem zahlreiche Fibrinflocken schwammen. Die Serosa des Darmes und namentlich auch der Leber war von membranösen Fibrinexsudationen bedeckt. Das Herzblut war meist steril.

Sehr merkwürdig war die geringe Wirkung auf Kaninchen bei subkutaner Applikation gegenüber den Stämmen der Kruse-Shiga-Gruppe. Jürgens hat diese Tatsache ebenfalls beobachtet, aber meines Erachtens in ihrer Bedeutung zu wenig gewürdigt. Ich habe in dieser Richtung geprüft einerseits die Flexner-Stämme von Flexner (Král), Jürgens. Leiner und die 12 Stämme der Wiener Epidemie, andererseits alle mir überhaupt zugänglichen Kulturen aus Kruse-Epidemieen (Krakau 1904, Bruck 1902), sporadischer, verschleppter Fall aus Südungarn, 1904 in Wien beobachtet, Shiga, Kruse (2 Stämme), Müller, Jürgens und fand, daß Kaninchen die subkutane Injektion von 1—2 Oesen lebender oder 1 Stunde bei 60° abgetöteter Flexner-Stämme gut vertragen, während bei sämtlichen Kruse-Kulturen $^1/_2$ Oese abgetöteter Kultur subkutan ausnahmslos genügte, um nach 2—3 Tagen auffallende Hypothermie (an den Löffeln deutlich zu konstatieren), Cyanose, Paralyse der hinteren Körperhälfte (vollständige Lähmung der Sphinkteren und hinteren Extremitäten) und nach weiteren 24—48 Stunden den Exitus herbeizuführen. Für die Feststellung, ob ein Stamm in die Kruse-Gruppe gehört, wird man wohl auf diese einfache Prüfung der Toxizität für Kaninchen reflektieren müssen, wenn nicht etwa weitere Beobachtungen Ausnahmen von diesem Gesetze ergeben, und kann dieser Tierversuch die Agglutination in ähnlicher Weise ersetzen wie der Meerschweinchenversuch bei der Diphtherie[1]).

---

[1]) Diese Tatsachen haben inzwischen durch eine Publikation von Todd, Dysentery toxin and antitoxin (Journ. of hyg. Vol. IV. p. 480) eine weitere Bestätigung erfahren. Das genaue Studium der Kruse-Toxine bildet übrigens auch den Gegenstand einer demnächst erscheinenden Arbeit von R. Kraus.

Für die Flexner-Stämme konnten ähnliche Verhältnisse, wie gesagt, nie eruiert werden, auch bei Variation der Versuchstiere; hier bleiben wir auf die Agglutination mit hochwertigem Serum angewiesen.

Ich habe diese Prüfung bei den Wiener Stämmen auch durchgeführt mit Immunseris, die sich von Kaninchen bei der geringen Toxizität der Kulturen leicht erhalten ließen, und zwar mit einem Flexner-Serum, hergestellt mit dem von Král bezogenen Stamme und einem zweiten Serum, gewonnen durch Injektion eines Wiener Stammes. Das Resultat ist aus Tabelle III ersichtlich.

Tabelle III (Serum Flexner-Král).

	Stämme aus Wien	Flexner	Jürgens	Leiner			Kruse		Paratyphus	
				Gretlinger	Hammer	Brunner	Bruck 1902	Müller	A	B
1: 100	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
1: 200	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—
1: 400	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
1: 800	+	+	+	±	±	—	—	—	—	—
1:1000	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1:1600	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1:2000	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Serum desselben Kaninchens war vor der Immunisierung auf sämtliche Stämme (auch bei Verdünnungen von 1:10) wirkungslos.

Aehnlich war das Resultat mit dem 2. Immunserum, hergestellt mit einem Wiener Stamm (Wert 1:2000).

Kruse-Serum war auf sämtliche Flexner-Stämme wirkungslos.

Auch mit Flexner-Seris anderer Provenienz (eines, vom Kaninchen stammend, wurde mir von Dr. Leiner zur Verfügung gestellt, ein zweites wurde durch längere Immunisierung von Ziegen im serotherapeutischen Institut (Prof. Paltauf) gewonnen] ergaben stets die Identität der Wiener Stämme mit denen von Flexner und Jürgens.

Ueber die ätiologische Bedeutung der gefundenen Stäbchen für das Zustandekommen des dysenterischen Krankheitsbildes kann ich mich kurz fassen, da alle hier in Betracht kommenden Gesichtspunkte von Jürgens ausführlich und sehr klar dargelegt wurden. Es ist ein großes Verdienst dieses Autors, die Dysenterieliteratur der letzten Jahre kritisch beleuchtet und betont zu haben, daß die Anwesenheit eines Infektionserregers nicht genügt, um die Diagnose einer Infektionskrankheit zu stellen, sondern daß die reaktiven Vorgänge, mit welchen der Organismus die Infektion beantwortet, vor allem genau beobachtet und mit Vorsicht verwertet werden müssen.

Es sei also nur hervorgehoben, daß mir weder bei der Kruse-Epidemie in Krakau noch bei der Flexner-Epidemie in Wien der Nachweis von Amöben in den Stühlen gelang. Weder *Amoeba histolytica* Schaudinn noch *Amoeba coli* konnten gefunden werden, trotzdem die Stühle wiederholt und stets in ganz frischem Zustande untersucht wurden. Auch war es nicht möglich, aus den Entleerungen in Wien Kruse-Bacillen oder aus denen in Krakau Flexner-Stämme zu isolieren; hierzu sei bemerkt, daß es nie mit dem Abimpfen einer charakteristischen Kolonie sein Bewenden hatte, sondern daß fast immer Serien von Kolonieen in Traubenzuckeragar abgeimpft und die nicht vergärenden stets in Mannit-Nutrose-Lackmus-Röhrchen auf ihre Zugehörigkeit zu einer der beiden Gruppen geprüft wurden. Dagegen fanden sich in Stühlen der Krakauer Epidemie, und zwar in den späteren Krankheitsperioden, zu einer Zeit, wo die Ausleerungen mehr eiterig waren, wenig Schleim und Blut enthielten, Kruse-Bacillen nicht mehr nachweisbar waren und das Serum der Kranken einen hohen agglutinatorischen Titre für Kruse angenommen hatte, neben reichlichem Coli auch vereinzelte blaue Kolonieen, die kulturell, namentlich in ihrem Verhalten gegen Zuckerarten, eine weitgehende Aehnlichkeit mit Kruse-Stämmen aufwiesen, aber weder vom Serum der Patienten noch von hochwertigem Kruse-Serum agglutiniert wurden, noch auch die charakteristische Toxizität für Kaninchen zeigten; immerhin ließen sich diese Stämme doch auch kulturell von Kruse-Bacillen differenzieren. Dagegen waren in der Wiener Epidemie 2mal Bacillen in den Stühlen vorhanden, die kulturell von Flexner-Stämmen überhaupt nicht differierten, das eine Mal neben Coli, das zweite Mal in Reinkultur. Es sind das die 2 restlichen negativen Fälle von den 29 in Wien durchgeführten Untersuchungen. Diese Stämme wurden durch Flexner-Serum nicht beeinflußt. Nach den Erfahrungen der letzten Jahre über inagglutinable Typhusstämme konnte es sich im vorliegenden Falle um analoge Vorkommnisse handeln. Es wurden also mit diesen 2 Stämmen neue Sera hergestellt, die sich aber auf Flexner-Stämme ebenfalls unwirksam erwiesen. Das Serum dieser Patienten agglutinierte die fraglichen Stämme nicht, wohl aber Flexner-Bacillen. Das klinische Bild glich vollkommen dem der echten Dysenterie. Es dürfte sich hier um Coli-Varietäten handeln, die sich auf der erkrankten Darmschleimhaut entwickeln und mit dem Prozeß, wie das Fehlen der Agglutination durch das Serum der betreffenden Kranken und das positive Ergebnis der Reaktion mit echten Flexner-Stämmen beweist, ätiologisch nichts zu tun haben. Eine solche Veränderlichkeit von Coli-Rassen, namentlich unter krankhaften Bedingungen, ist seit langem bekannt. Es sei nur erinnert an die Beobachtungen von Escherich über das Auftreten neuer Eigenschaften des Darmcoli bei Colitiden der Kinder. Ferner wurde im obigen Laboratorium ein Fall von periproktitischer Eiterung beobachtet, bei dem der Eiter ausschließlich eine Coli-Varietät enthielt, die Traubenzucker nicht vergor und wo über die Provenienz des Coli und seine ursprünglich gasbildende Eigenschaft schwer ein Zweifel möglich ist. Daraus ergibt sich aufs neue die Notwendigkeit, bei jedem einzelnen Stamme, selbst im Verlaufe einer größeren Epidemie, durch Feststellung der biologischen Eigenschaften die Zugehörigkeit zu den Ruhrbacillen überhaupt und zu einer der beiden Gruppen insbesondere zu ermitteln.

Die agglutinatorischen Eigenschaften des Krankenserums wurden bei 20 Patienten in Wien und 15 in Krakau geprüft, und zwar geschah die Untersuchung stets sowohl makroskopisch wie mikroskopisch. Makroskopisch kam die Kollesche Methode zur Verwendung (1 Normalöse 20-stündiger Agarkultur verrieben in 1 ccm der betreffenden Serumverdünnung), zur mikroskopischen Agglutination wurde 1 Oese Bouillonkultur (14-stündig), mit 1 Oese der halb so starken Serumverdünnung vermengt. Die Beobachtungszeit betrug bei den makroskopischen Reaktionen 4, bei den mikroskopischen 1 Stunde. Bei beiden Epidemieen wurden solche Fälle untersucht, wo der Bacillennachweis im Stuhl geglückt war, neben solchen, wo die Diagnose Ruhr sich lediglich auf den klinischen Symptomenkomplex stützte und der Nachweis der Erreger in den Faeces entweder nicht versucht oder nicht gelungen war. Jedes Serum wurde geprüft:

1) mit dem von Král bezogenen Flexner-Stamm;

2) mit einem Kruse-Stamm aus der Brucker Epidemie (1902). Die Kruseschen Originalstämme waren wegen ihrer Neigung zu spontaner Verklumpung nicht brauchbar. Vielleicht ist auf die Nichtbeachtung dieses Umstandes ein Teil jener Beobachtungen zu beziehen, wo bei Nachweis von Flexner-Bacillen in den Entleerungen das Krankenserum nicht nur diese, sondern auch Kruse-Stämme agglutinierte;

Tabelle IV (Agglutinationswerte der Krankensera der Wiener Epidemie).

No.	Agglutiniert					
	Flexner (Král)	Kruse (Bruck)	Wien 1904	Krakau 1904	Leiner (St. Brunner)	homologer Stamm
1	100	0	100	0	50	100
2	200	0	200	0	50	—
3	400	0	400	0	50	—[1])
4	400	0	400	0	100	500
5	200	0	200	0	50	—
6	200	50	200	50	25	—
7	50	0	50	0	0	—
8	50	0	50	0	0	50
9	400	0	400	0	100	400
10	25	0	25	0	0	50
11	200	25	100	10	50	200
12	50	0	50	0	0	—
13	100	0	100	0	10	—
14	50	0	50	0	0	50
15	50	0	50	0	0	50
16	10	0	10	0	0	25
17	100	0	100	0	25	—
18	10	0	10	0	0	25
19	50	0	50	0	0	50
20	200	10	200	10	50	200

Tabelle V (Krankensera aus Krakau).

No.	Agglutiniert					
	Flexner (Král)	Kruse (Bruck)	Wien 1904	Krakau 1904	Leiner (St. Brunner)	homologer Stamm
1	0	100	0	100	0	—
2	0	100	0	100	0	—
3	25	200	25	200	0	—
4	25	200	50	200	0	—
5	25	400	25	400	10	—
6	50	100	50	100	25	—
7	25	400	50	400	0	400
8	0	50	0	50	0	—
9	25	100	25	100	0	100
10	50	200	50	200	25	—
11	0	200	0	200	0	—
12	0	25	0	25	0	—
13	0	50	0	50	0	—
14	100	200	100	200	25	—
15	0	100	0	100	0	—

---

1) Dieses Serum agglutinierte auch ein aus dem Stuhl des Kranken gezüchtetes Coli im Verhältnis von 1:50.

3) mit einem Stamm aus der Wiener Epidemie (Flexner) 1904;

4) mit einem Stamm der Krakauer Epidemie (Kruse) 1904;

5) mit dem Stamm Brunner, den Leiner aus Kinderdysenterieen erhalten, und endlich

6) eventuell mit dem homologen, d. h. aus dem Stuhl des Patienten gezüchteten Stamm.

Diese Resultate sind ganz ähnlich den von Jürgens erhaltenen. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß bei Flexner-Ruhr seltener Agglutination für Kruse-Bacillen beobachtet wird als umgekehrt und daß dieselbe sich auch in viel niedrigeren Werten bewegt, so daß man über die Natur des Hauptagglutinins nicht im Zweifel sein kann. Bei Kruse-Fällen findet sich dagegen öfter Agglutination von Flexner-Bacillen und erreicht dieselbe auch hohe Titres, was wohl damit im Zusammenhang steht, daß schon viele Normalsera oder Sera von andersartig erkrankten Individuen Flexner-Bacillen in Verdünnungen bis 1:20, seltener 1:30 agglutinieren. Auch normale Tiersera, insbesondere Pferdesera, wirken auf Flexner-Stämme noch in Verdünnungen von 1:100; bei Ziegenseris sind die Werte geringer (1:30), bei normalen Kaninchenseris fehlt, soweit ich nach meinen Erfahrungen schließen kann, diese Eigenschaft ganz, so daß diese Tiere sich auch aus diesem Grunde gut zur Herstellung agglutinierender Flexner-Sera eignen. Bezüglich der Zeit des ersten Auftretens der Agglutinationswirkung im Serum, ihres Ansteigens während des Krankheitsverlaufes stimmen meine Beobachtungen mit den von Jürgens erhobenen Befunden überein. Ein Parallelismus zwischen der Schwere des Infektes und der Höhe des Titers für den betreffenden Erreger konnte gleichfalls nicht konstatiert werden.

Schließlich wurde noch geprüft, ob die Stämme von Flexner, Jürgens und die aus der Wiener Epidemie gezüchteten einerseits und die von Leiner aus Kinderdysenterieen erhaltenen andererseits wirklich vollkommen identisch sind oder nicht. Zweifel in dieser Richtung werden zunächst wachgerufen durch den Umstand, daß die ersterwähnten Rassen sämtlich echten Dysenterieepidemieen entstammen, die Leinerschen Stämme aber ähnlich wie die Ruhr der Irren nur sporadisch auftretende Fälle betreffen, ferner durch die Tatsache, daß Flexner-Sera nicht gleichmäßig auf die Stämme epidemischer Ruhr und Kinderruhr einwirken. So blieben Krankensera von Flexner-Fällen oft (siehe Tabelle V) auf den Stamm Brunner wirkungslos oder hatten nur einen bedeutend niedrigeren Titer als für Flexner-Stämme.

Ebenso differierten auch Immunsera. Ein Serum (1:400, Kaninchen) agglutinierte z. B. den Stamm Brunner gar nicht. Hochwertige Sera (1:2000, Kaninchen, siehe Tabelle III) agglutinierten den

Stamm Gretlinger 1:400
„ Hammer 1:400
„ Brunner 1:100 (200 inkompl.)

Ein zweites Immunserum mit dem Titer 1:1600 für Flexner lieferte bezüglich der Leinerschen Stämme ein ganz analoges Resultat. Es muß hier der Verdacht rege werden, daß es sich um Mitagglutination naher verwandter Arten handle, ähnlich der Wirksamkeit hochwertiger Typhussera auf Paratyphuskulturen Typus B. Um über diese Verhältnisse Aufschluß zu bekommen, wurde der Castellanische Versuch der elektiven Absorption in Anwendung gezogen, der folgendes Resultat ergab:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Von einem Flexner-Serum (1:1600) wurde 1 ccm der Verdünnungen (1:10, 20, 40, 80, 100, 200, 400, 800, 1600) mit je einer Oese

a) des Stammes Hammer,
b) „ „ Brunner,
c) „ „ Gretlinger

versetzt, das Serum nach Agglutination und Sedimentierung der Krümel abpipettiert und je eine Oese Flexner-Kultur darin emulgiert.

Andererseits wurden dieselben Verdünnungen zunächst mit Flexner-Kultur und nach Abpipettierung des klaren Serums dieses mit je einer Oese der Stämme Hammer, Brunner, Gretlinger versetzt. Im ersten Falle trat prompt Agglutination in allen Verdünnungen ein, in der zweiten Reihe nur bei 1:10, es war durch Bindung des Hauptagglutinins das Mitagglutinin nahezu quantitativ ausgefällt worden, aber nicht umgekehrt.

Bei den Wiener Stämmen trat nach vollständiger Absorption des Flexner-Agglutinins durch den homologen Bacillus keine agglutinatorische Beeinflussung auf, wie auch andererseits die Wiener Stämme im stande waren, das Agglutinin den Serumverdünnungen so vollständig zu entziehen, daß diese auf den zur Immunisierung verwendeten Flexner-Stamm wirkungslos blieben.

Auf Grund dieser Tatsachen erscheint der Bacillus Flexner neben dem Typus Kruse als ein zweiter durch seine Agglutinationsreaktion gut charakterisierter und von den aus sporadischen Fällen gezüchteten Stämmen [Pseudodysenterie, Ruhr der Irren, Kinderdysenterie (Leiner)] leicht abzugrenzender Erreger der **epidemischen** Ruhr.

Für die Ueberlassung des Materials bin ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Oberstabsarzt Dr. L. Kamen, zu wärmstem Danke verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen des Blutes bei Flecktyphus.

[Aus dem Sokolnitscheski Krankenhaus in Moskau.]

Von **M. Kireeff.**

Der Flecktyphus gehört zu den ansteckendsten akuten Infektionskrankheiten. Der Krankheitsverlauf ist ein sehr schwerer und die Mortalität schwankt zwischen 15—20 Proz.

Der Erreger dieser Krankheit ist bis jetzt noch nicht bekannt, obgleich manche Forscher im Blute der Kranken verschiedene Mikroorganismen fanden, die sie als Flecktyphuskontagium beschrieben. Aber andere Autoren bestätigten diese Funde nicht, und die Natur des Flecktyphusgiftes ist noch nicht aufgeklärt, trotz der vielfachen Forschungen. Im Jahre 1883 beobachtete Mott (1) bewegliche Spirillen im Blute von Flecktyphuskranken.

Im Jahre 1888 beschrieben Moreau und Cochez (2) ein, dem Eberth-Bacillus ähnliches Stäbchen, welches sie im Blute der Flecktyphuskranken fanden und das sie für den Erreger der Krankheit hielten. 1892 konstatierte Lewaschew (5), daß im Blute der Flecktyphuskranken eigenartige Organismen vorkommen, welche eine hohe diagnostische Bedeutung hätten. Wenn man einen Blutstropfen aus der Milz eines Flecktyphuskranken unter das Mikroskop bringt, findet man kleine, rundliche, stark lichtbrechende, in frischen Präparaten sich höchst energisch bewegende Gebilde. Wenn man diese Gebilde sorgfältig weiter untersuche, bemerke man oft, daß einer ihrer Pole sich verlängert und in ein feines, sich schnell bewegendes Fädchen übergeht. Im Anfangsstadium der Krankheit erschienen sie großenteils als rundliche Körperchen ohne Faden, nach der Krisis verschwänden sie.

Diese Gebilde konnte Verf. oft, aber nicht konstant, finden; im normalen oder von anderen Kranken stammenden Blute seien sie niemals anzutreffen.

Die bakteriologischen Untersuchungen des Flecktyphusblutes hätten positive Resultate ergeben. Als Nährboden nahm Verf. Ascitesflüssigkeit und stellte aus demselben 1—1,5-proz. Serumagar her.

Es entwickelten sich schon nach 24 Stunden bei 37° in den tieferen Schichten kleine, weißliche, durchsichtige, wolkenartige Kolonieen. Unter dem Mikroskop konnte man sich überzeugen, daß sie aus einer Reinkultur von Mikrokokken zusammengesetzt sind.

In demselben Jahre stellten Toinot und Calmette (3) einen neuen Erreger der Krankheit auf, welchen sie in Gestalt von amöbenartigen Gebilden beschrieben.

1894 fanden Dubief und Brühl (4) im Blute mit Kapseln versehene Diplokokken. Sie züchteten diese Gebilde auf verschiedenen der gebräuchlichen Nährböden und erhielten auf Agar orangegelbe Kulturen.

1895 führte Afanasieff (6) einen keimfreien Seidenfaden subkutan ein, der am nächsten Tage herausgezogen, in kleine Stücke zerschnitten und in verschiedene Nährböden gelegt wurde. In 14 Fällen wuchsen Kulturen von Bakterien, die man für spezifisch bei Unterleibstyphus hielt.

1902 fand Hlava (9) im Blute Flecktyphuskranker den Leuconostoc hominis und glaubt. daß ihm eine wesentliche Rolle bei den akuten Exanthemen zufällt. Ob der Leuconostoc spezifisch für die einzelnen exanthematischen Krankheiten ist, läßt sich vorläufig durch Experimente nicht nachweisen. Am besten gedeiht Leuconostoc in Zopfscher Bouillon (Wasser 1000,0, Weinsaures Ammonium 10,0, Monokaliumphosphat 5,0, Magnesiumsulfat 2,5, Tricalciumphosphat 0,5, Pepton 10,0, Kandiszucker 140,0). In dieser Bouillon bildet sich bei 37° C nach 12—24 Stunden eine schleierartige, weißliche Membran, die allmählich kompakter wird und nach einigen Tagen sich zu Boden setzt. Untersucht man diese Kulturen mikroskopisch, so findet man zunächst eine ausgesprochene Membranbildung, in welcher einzelne Kettenkokken oder Kettenkokkenfamilien eingebettet liegen. Die Kettenglieder sind kurz, bestehen zumeist aus Diplokokken oder Diplokokkenketten von rundlicher Form, oder scheibenförmigen Kettenreihen, die aber auch ovoide Form annehmen; ja einzelne Glieder sind groß, ovoid, bauchig, länger gestreckt und nehmen deutlich Stäbchenform an. Der Leuconostoc färbt sich nach der Gramschen Methode.

Gotschlich (7) (im Jahre 1903) wies im Blute von 6 Kranken ein Protozoon nach. Der Parasit tritt sowohl im Innern der roten Blutkörperchen auf, als auch frei in der Blutflüssigkeit. Zur Färbung der endoglobulären Formen eignet sich vortrefflich die stark verdünnte Borax-Methylenblaulösung (die ganz ebenso wie bei Malaria angewandt wird); für den Nachweis der extraglobulären Formen bewährte sich dem Autor am besten ganz kurzdauernde Färbung mit dem unverdünnten Ziehlschen Karbolfuchsin.

In der endoglobulären Form ist der Parasit am häufigsten von birnförmiger Gestalt, wobei seine Größe zwischen 1 Mikron und etwa der Hälfte eines Erytrocythen schwanken kann. Die Kontur des Parasiten ist glatt und regelmäßig, im Innern zeigen sich kleine, runde Körnchen. Im lebenden, ungefärbten Präparat besitzt der Parasit lebhafte Eigenbewegung. In einem Falle fand der Autor cystenförmige und in 4 Fällen spermatozoonartige Gebilde.

1904 bringt Newjadomski (8) in seiner vorläufigen Mitteilung zur Kenntnis, daß es ihm gelungen ist, den Flecktyphuserreger zu finden, der nichts mit den bis jetzt von anderen Autoren beschriebenen Erregern gemein hat.

Im Jahre 1902/3 beschäftigte ich mich in der Flecktyphusabteilung des Krankenhauses, wo ich die Veränderung des Blutes Flecktyphuskranker untersuchte. Gleichzeitig mit den eben genannten Untersuchungen des Blutes beschloß ich, mehrere der oben erwähnten bakteriologischen Untersuchungen zu wiederholen. Einer Roseola oder der Spitze eines reingewaschenen Fingers entnahm ich zu diesem Zweck durch einen Stich einen Blutstropfen, übertrug ihn in Glasröhren mit Nährlösungen und stellte dieselben in den Brütschrank bei 37° C. Außerdem entzog ich mit einer Pravaz-Spritze der Vena mediana Blut und übertrug es ebenfalls in eine Reihe von Glasröhren. Als Nährböden dienten mir gewöhnlich zubereitete Bouillon, gewöhnlicher Agar und Zopfsche Bouillon. Die in den Thermostaten gestellten Glasröhren beschaute ich jeden Tag und wenn sich in ihnen kein Wachstum zeigte, stellte ich sie wieder in den Schrank zurück. Wenn die Nährböden im Verlaufe einer Woche steril blieben, hielt ich die Resultate für negativ.

Jedesmal gebrauchte ich nicht weniger als 9 Glasröhren, je 3 von jeder Nährlösung.

Aus der angeführten Tabelle ist zu ersehen, daß alle Resultate negativ waren. Diejenigen drei Fälle, wo in Bouillon eine Streptokokkenkolonie war, muß man für eine zufällige, aus der Luft oder von der Haut des Fingers herrührende Verunreinigung halten, weil in diesen Fällen alle übrigen Glasröhren kein Wachstum aufwiesen.

No.	Name und Familie	Datum	Krankheitstag	Temperatur	Das Blut rührte her	Die Resultate
1	A. Z.	26. 1.	5.	40	aus einer Roseola	negativ
	„ „	29. 1.	8.	38,7	„ dem Finger	neg., außer einem Glasrohr m. gewöhnl. Bouillon, wo Streptokokkenkultur gewachsen war
2	J. B.	28. 2.	5.	39,4	„ einer Roseola	negativ
	„ „	1. 3.	6.	39,3	„ der Vena mediana	„
3	J. A.	14. 3.	11.	39,9	„ „ „ „	„
	„ „	17. 3.	14.	40	„ „ „ „	„
4	B. N.	3. 4.	6.	39,8	„ „ „ „	„
	„ „	4. 4.	7.	39,4	„ einer Roseola	„
5	D. A.	10. 4.	6.	39,3	„ dem Finger	„
	„ „	17. 4.	13.	38,1	„ „ „	neg., außer einem Glasrohr m. gewöhnl. Bouillon, wo Streptokokkenkultur gewachsen war
6	A. F.	16. 4.	7.	40	„ der Vena mediana	negativ
	„ „	19. 4.	10.	39,4	„ „ „ „	„
7	A. E.	17. 4.	6.	39,6	„ „ „ „	„
	„ „	19. 4.	8.	39,5	„ „ „ „	„
8	E. B.	23. 4.	8.	39,1	„ dem Finger	„
	„ „	25. 4.	10.	39,5	„ der Vena mediana	„
9	P. B.	26. 4.	4.	39,6	„ „ „ „	„
	„ „	30. 4.	8.	38,6	„ einer Petechie	„
10	N. S.	29. 4.	9.	39,3	„ dem Finger	neg., außer einem Glasrohr m. gewöhnl. Bouillon, wo Streptokokkenkultur gewachsen war
	„ „	30. 4.	10.	39	„ der Vena mediana	negativ
11	M. B.	12. 8.	12.	40	„ „ „ „	„
	„ „	15. 8.	15.	39	„ einer Petechie	„
12	F. W.	17. 8.	5.	39,5	„ der Vena mediana	„

Bei meinen Untersuchungen über Veränderung des Blutes bei 25 Flecktyphuskranken studierte ich in mehr als 100, doppelt mit Eosin und Methylenblau gefärbten Präparaten die Morphologie der weißen Blutkörperchen, fand aber kein einziges Mal in diesen Präparaten die von Gotschlich beschriebenen Parasiten. Einige Präparate waren mit Zielschem Karbolfuchsin gefärbt, aber die extraglobulären Formen waren nicht zu entdecken.

Es ist anzunehmen, daß, wenn der Erreger des Flecktyphus im Blute vorhanden ist, die Sichtbarmachung und Reinkultur desselben eine besondere Nährlösung erfordert.

Schließlich spreche ich dem Herrn Privatdozenten W. Woronin und dem Herrn Prosektor P. Newjadomski meinen ergebensten Dank aus.

Literatur.

1) **Mott**, Brit. med. Journal. 1883. Zitiert nach **Curschmann**, spezielle Pathologie und Therapie, herausgegeben von **Nothnagel**. 1900.
2) **Moreau** und **Cochez**, Contrib. à l'étude de typh. exanthémat. (Gaz. hebd. 1888. Zitiert ibid.)
3) **Toinot** und **Calmette**, Note sur quelques examens de sang dans le typh. exanth. (Annales de l'inst. Pasteur. 1892. Zitiert ibid.)
4) **Dubief** et **Brühl**, Contribut. à l'étude anatomo-pathologique et bactériologique du typh. exanthémat. (Arch. de méd. expériment. 1894.)
5) **Lewaschew**, Ueber die Mikroorganismen des Flecktyphus. (Dtsche med. Wochenschrift 1892.)
6) **Afanasieff**, Bakteriologische Untersuchungen des Flecktyphus. (Wratsch. 1895. Russ. medicin. Journal.)
7) **Gotschlich**, Ueber Protozoenbefund im Blute von Flecktyphuskranken. (Dtsche med. Wchnschr. 1903.)
8) **Newjadomski**, Ueber die Erreger akuter exanthematischer Infektionskrankheiten. (Russkij Wratsch. 1904.)
9) **Hlava**, Leuconostoc hominis und seine Rolle bei den akuten exanthematischen Krankheiten. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.)

Nachdruck verboten.

Endgültige Entgegnung an Dr. Vilh. Jensen auf seine Frage: „Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art?“

Von Dr. **Erich Cohn**, Assistenten an der med. Poliklinik in Bonn.

Die Verneinung der in der Ueberschrift gestellten Frage durch Dr. **Vilh. Jensen** in seiner Habilitationsschrift: „Undersøgelser over patogen gaer“[1]) hatte mich, da ich in meinen Veröffentlichungen über die genannte Hefe dieselbe für eine besondere Art angesehen hatte, veranlaßt, mich in Bd. XXXVI. p. 369 vorliegenden Centralblattes nochmals zu dieser Frage zu äußern. Daß ich diese Auseinandersetzung nicht rein sachlich vornehmen konnte, sondern außer den wissenschaftlichen Behauptungen **Jensens** auch dessen persönliche Angriffe gegen meine Arbeiten zurückweisen mußte, glaubte ich nicht sowohl meiner Person, als vor allem der meines hochverehrten Lehrers, Prof. **Carl Fraenkels**, an dessen Institute und unter dessen Leitung ich diese Arbeiten ausgeführt habe, schuldig zu sein. Allerdings behauptet Dr. **Jensen** in einem neuerdings (in diesem Centralbl. Bd. XXXVIII. p. 51) erschienenen Aufsatze, der eine Entgegnung auf meine eben erwähnten Ausführungen darstellen soll, meine Beschwerde über persönliche Angriffe sei „völlig aus der Luft gegriffen“, hat aber gleichzeitig die Freundlichkeit, die betreffende Stelle seines Buches, die zu meiner Beschwerde Veranlassung gab, durch Abdruck in deutscher Uebersetzung allen an dieser Streitfrage Anteil Nehmenden zugänglich zu machen. Ich habe hierauf nur zu erwidern, daß, wenn jemand die Arbeiten eines fremden Kollegen ohne sachliche Begründung als „unvollständig“ und „mangelhaft“ bezeichnet, und dies nicht für persönliche Angriffe hält, ich mit der Feststellung der Differenz unserer Ansichten diesen Teil der Angelegenheit für erledigt halte, und möchte Herrn **Jensen** nur noch auf das Eine aufmerksam machen, daß, wenn er selbst zugibt, die **Kleinsche** Veröffentlichung im Journal of Hygiene[2])

---

1) „Untersuchungen über pathogene Hefe.“
2) Vol. I. p. 90.

nur aus meinem Referate zu kennen und in demselben Satze dieses Referat als „unvollständig“ bezeichnet, ihm der in diesen Worten liegende logische Widerspruch entgangen ist.

Zur Sache bemerkt Dr. Jensen in erster Linie, ich hätte es ganz übersehen, daß, während meine Anschauung von der Kleinschen Hefe als besonderer Art sich nur auf die Literatur stützte, von ihm eigene Untersuchungen zum Vergleiche der verschiedenen Hefearten angestellt worden seien. Wie kann ich das wohl übersehen haben, wenn ich mir auf 9 Druckseiten die Mühe gegeben habe, nachzuweisen, daß diesen Untersuchungen — ihre Richtigkeit, die zu bestreiten ich kein Recht hatte, vorausgesetzt — jede Beweiskraft abgeht? Diesen Vorwurf und den der Unterlassung eigener Nachuntersuchungen kann mir Jensen nur deshalb machen, weil er meine Ausführungen, wie im einzelnen, so vor allem in ihrem Grundgedanken vollständig mißverstanden hat. Wer von uns hieran die Schuld trägt, möge dabei ganz dahingestellt bleiben, wiewohl ich meine, daß selbst jemand, der meine Ausführungen mißverstanden hat, doch wenigstens so viel daraus hätte ersehen müssen, daß ich nicht, wie Jensen meint, die Schwierigkeit einer Differentialdiagnose der verschiedenen Hefearten unterschätze. Abgesehen davon, will ich aber, wie gesagt, mit der Möglichkeit rechnen, daß meine Darstellung zu den Mißverständnissen Anlaß geben konnte, und da mir an der genauen Feststellung meines Standpunktes in der hier behandelten Frage gelegen ist, mögen es mir die Leser des Blattes nachsehen, wenn ich ihn in diesem Zusammenhange nochmals präzisiere: Ich habe sagen wollen, und wiederhole es jetzt, daß ich Untersuchungen mit Hefepilzen, die vor Jahren aus ihren natürlichen Verhältnissen isoliert, seitdem an verschiedenen Stellen unter nicht zu kontrollierenden Einflüssen fortgezüchtet worden sind, nicht soviel Beweiskraft zuerkennen kann, um auf Grund derselben die von den ersten Untersuchern der betreffenden Hefen bald nach ihrer Gewinnung gemachten und in der Literatur niedergelegten Beobachtungen für ungültig zu erklären. Es ist doch sonst in der Bakteriologie meines Wissens nicht üblich, von derartig retrospektiven Untersuchungen die Entscheidung wissenschaftlicher Fragen abhängig zu machen, geschweige denn, wenn es sich um Mikroorganismen handelt, deren Variabilität, was ja auch Jensen zugibt, erwiesen ist. Von diesem Standpunkte aus ist es mir auch erklärlich, und brauche ich es durchaus nicht, wie Jensen meint, „tragisch“ zu nehmen, wenn Sanfelice in einer neueren Arbeit¹) drei früher von ihm als different behandelte Hefearten nunmehr für unter sich und überdies noch mit der Plimmerschen Hefe identisch erklärt. Sagt doch Sanfelice an der betreffenden Stelle gleich darauf selbst, daß sein Saccharomyces neoformans bei intraperitonealer Impfung von Meerschweinchen ursprünglich einen anderen Befund gegeben habe, und geht auch sonst aus seiner eigenen Darstellung hervor, daß doch noch gewisse Unterschiede, wenn auch in diesem Falle nur gradueller Natur, zwischen den beschriebenen Hefearten bestanden. Mithin läßt sich also dieser Gegensatz, in welchen sich Sanfelice zu seinen früheren, von mir als Stütze für meine Ansicht verwendeten Angaben gesetzt hat, auch jetzt noch mindestens ebensogut zu Gunsten meiner Auffassung als wider dieselbe in Anspruch nehmen; doch ist dieser Gegensatz wenigstens —

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV (nicht wie bei Jensen zu lesen: Bd. XXXIV). p. 378.

und dies sei Jensen zugegeben — in Wirklichkeit vorhanden. Ganz anders steht es aber mit dem Gegensatze, den Jensen zwischen Curtis, Busse, Petersen und Exner auf der einen Seite und mir auf der anderen Seite konstruiert; denn wenn er behauptet, die genannten Forscher hätten „gezeigt, daß Curtis' Hefen sich mit Vorliebe im Zentralnervensystem ansiedeln“ und es „ganz unverständlich“ findet, wie ich es „wagen“ kann, „so vielen Forschern gegenüber das Gegenteil zu behaupten“, so findet dieses „Wagnis“ seine einfache Erklärung darin, daß

1) in der bekannten Arbeit von Curtis[1]) über die von ihm entdeckte Hefe von einer Ansiedelung derselben im Zentralnervensystem, geschweige denn von einer Vorliebe hierfür nicht ein einziges Wort steht, daß

2) Petersen und Exner[2]) mit Hefe Curtis gar nicht gearbeitet haben und Jensen offenbar überhaupt nicht die Hefe Curtis', sondern die Bussesche meint, und daß es

3) auch für diese nicht stimmt; denn, wenngleich Busse[3]) sowie Petersen und Exner über Ansiedelung von Hefen im Gehirn von Mäusen und dadurch bedingte pathologische Veränderungen berichten, so sehe ich in diesem Befunde doch durchaus kein Analogon zu der von mir hervorgehobenen Eigenschaft der Kleinschen Hefe, bei drei verschiedenen Tierarten (Meerschwein, Kaninchen, Hund) prädilektorisch nicht bloß das Gehirn, sondern vor allem auch das Rückenmark zu befallen und dadurch charakteristische Krankheitserscheinungen hervorzurufen, während ich gerade zum Unterschiede von der Busseschen Hefe darauf hingewiesen habe, daß bei Mäusen das Zentralnervensystem so gut wie völlig verschont bleibt.

Da hätte doch Jensen mit größerem Recht — man sieht, ich komme ihm in meinem Streben nach Objektivität sogar so weit entgegen, daß ich ihn auf Literaturstellen aufmerksam mache, die er zu meinen Ungunsten auslegen kann — sich wiederum auf die von ihm bereits angeführte Arbeit von Sanfelice berufen können, der bei Hunden nach Hefeimpfung Knötchen auch im Rückenmark und Krankheitserscheinungen schildert, die mit den von mir beschriebenen in der Tat Aehnlichkeit haben[4]). Indessen habe ich ja in meinem Aufsatze „Ein Beitrag zum Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen“ bereits ausdrücklich gesagt: „Immerhin ist es ja gar nicht ausgeschlossen, daß eine pathogene Wirkung, die bei einer bestimmten Hefeart regelmäßig eintritt und für dieselbe charakteristisch ist, sich zufällig auch einmal bei anderen Arten zeigt[5]); außerdem mögen vielleicht gerade Hunde — auch Sternberg hat bei Hunden nach Impfung mit einer von Sanfelices Hefen Granulationsgeschwülste im Gehirn beobachtet[6]) — für derartige Erkrankungen der nervösen Zentralorgane besonders empfänglich sein. Wie dem auch sei, ich glaubte die Erwähnung dieses nachträglich bekannt gewordenen Befundes von Sanfelice der wissenschaftlichen Wahrheit schuldig zu sein; eine Revision meines Standpunktes brauche ich darum auf Grund des eben Gesagten doch nicht vorzunehmen. Und das von Jensen gegen mich vorgebrachte Literaturmaterial ist, wie ich gezeigt habe, auch nach seiner richtigen Umdeutung hierfür völlig belanglos.

---

[1] Ann. Pasteur. T. X. 1896. p. 449.

[2] Beitr. z. klin. Chir. Bd. XXV. p. 769.

[3] Monographie. Berlin (Hirschwald).

[4] a. a. O. p. 386.

[5] Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. p. 377.

[6] Zieglers Beitr. Bd. XXXII. p. 1 bezw. p. 78/79.

Des weiteren bestreitet Dr. Jensen, daß die zweite von mir als charakteristisch für die Kleinsche Hefe angesehene — auf alle Fälle aber zuerst beschriebene — pathogene Eigenschaft derselben, vom Blutkreislauf aus Entzündungen der Schleimhäute, insbesondere der Augenbindehaut, zu erregen, für diese Hefeart spezifisch sei, und nimmt an meiner Aeußerung Anstoß, daß ich es wunderbar fände, wenn andere Hefen ebenfalls diese Eigenschaft haben sollten, ohne daß ihre Untersucher darüber berichten, wozu er bemerkt, ich hätte mich vielmehr darüber wundern müssen, daß Klein bei seinen Untersuchungen über dieselbe Hefeart diesen Befund nicht erhoben hat. Nun, darüber habe ich mich auch — ich will dies Jensen nachträglich gestehen — gewundert, wenngleich ich es nicht für nötig befunden habe, dies druckschriftlich niederzulegen; ich habe es mir aber so zu erklären versucht, daß bei Meerschweinchen — wie ich dies ohnehin an anderer Stelle ausgeführt habe[1]) — sich im Verhalten gegenüber pathogenen Hefen Unterschiede geltend machen, die möglicherweise auf der Verwendung verschiedener Rassen dieses Versuchstieres beruhen; und daß bei den wenigen Kaninchen — ich kannte damals nur die erste Veröffentlichung Kleins, in der von 2 Kaninchen die Rede ist — irgend welche Zufälligkeiten die Erhebung eines solchen Befundes verhindert haben. Es wäre übrigens interessant, wenn Klein, der jetzt jedenfalls über ein größeres Beobachtungsmaterial verfügt, Gelegenheit nähme, sich zu dieser Frage zu äußern.

Weit weniger hat es jedenfalls meine Verwunderung erregt, daß mir Jensen mangelnde Beherrschung der einschlägigen Literatur vorwirft, da dieser Passus in jeder polemischen Arbeit formularmäßig wiederzukehren pflegt (leider war es für mich bei der Sachlage diesmal nicht zu umgehen, von demselben Formulare Gebrauch zu machen); daß Jensen aber diesen Vorwurf auf Grund der Behauptung erhebt, ich hätte die Kapsel als etwas Besonderes für die Kleinsche Hefe angesehen, während ich doch in Bd. XXXIII. p. 690 dieses Blattes noch dazu in einer Ueberschrift ausdrücklich gesagt habe: „Ein sehr interessanter, auch anderen pathogenen Hefen eigener Bestandteil der Zelle, ist weiterhin die Kapsel“, sollte selbst in einer polemischen Arbeit nicht vorkommen. Harmlos ist es hingegen, daß Jensen leider auch meine Schlußbemerkung — das Einzige, was ihn in meiner Arbeit interessiert hat! — mißverstanden hat, denn er hat diese Bemerkung offenbar für ernst genommen. Ich überlasse es den Lesern, den Sinn meiner Worte zu deuten, und möchte damit meinerseits die Diskussion über diesen Gegenstand schließen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. p. 375.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen bei experimentellen Trypanosomenerkrankungen.

[Aus der kgl. Universitätsklinik für Hautkrankheiten zu Breslau (stellvertretender Direktor: Privatdozent Dr. Klingmüller).]

Von Dr. **Ludwig Halberstaedter,** Assistenzarzt der Klinik.

Mit 1 Tafel.

Herr Geheimrat Neisser hatte die Liebenswürdigkeit, mich mit einigen experimentellen und histologischen Untersuchungen bei verschiedenen Trypanosomenerkrankungen von Mäusen und Kaninchen zu betrauen, und zwar wurden mir zur Verfügung gestellt Mal de Caderas-, Nagana- und Dourinetrypanosomen. Die Mal de Caderas- und Naganatrypanosomen waren uns von Herrn Geheimrat Ehrlich, die Dourinetrypanosomen von Frau Dr. Lydia Rabinowitsch gütigst überlassen worden, und ich gestatte mir auch an dieser Stelle hierfür meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Bezüglich der bereits sehr reichhaltigen Literatur über Trypanosomen verweise ich auf die ausführlichen Literaturverzeichnisse in den Arbeiten von Rabinowitsch und Kempner in Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. p. 251 und Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. p. 804, ferner auf die kürzlich erschienene Monographie von Laveran und Mesnil: Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.

Im übrigen beschränke ich mich auf die Wiedergabe einiger Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen.

Ich gebe zunächst eine kurze Uebersicht über den Verlauf der Infektion mit Dourine-, Mal de Caderas- und Naganatrypanosomen bei weißen Mäusen und Kaninchen. Es liegen hierüber bereits eine größere Anzahl von Berichten vor und meine Beobachtungen weichen von den bisher bekannt gegebenen kaum ab.

Auf weiße Mäuse ließen sich die mir zur Verfügung stehenden 3 Trypanosomenarten stets prompt übertragen. Zur Uebertragung wurde der Schwanzspitze entnommenes, reichlich trypanosomenhaltiges Blut mit etwa der 10—15fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und von dieser Aufschwemmung 0,2—0,3 ccm einer frischen Maus intraperitoneal injiziert. Nach einer Latenzzeit von 24—48 Stunden ließen sich im Blute dieser Tiere bei mikroskopischer Untersuchung im hängenden Tropfen Trypanosomen nachweisen, die sich in den nächsten Tagen konstant vermehrten. Am 4.—6. Tage nach der Infektion gingen die Tiere zu Grunde. Irgend welche Krankheitserscheinungen traten bei keinem der infizierten Tiere auf, erst kurz vor dem Tode stellten sich klonisch-tonische Zuckungen ein. Bei der Sektion zeigte sich konstant eine sehr erhebliche Vergrößerung der Milz, aber sonst keine makroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen an inneren Organen. Es war weder in dem Verlauf der Infektion noch in dem Sektionsbefund ein Unterschied bei den mit Nagana, Dourine oder Mal de Caderas infizierten weißen Mäusen zu finden.

Mit derselben Sicherheit wie auf Mäuse ließen sich die 3 Trypanosomenarten durch intraperitoneale Injektion einer trypanosomenhaltigen Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung auch auf

Kaninchen übertragen. Hier entwickelte sich aber stets eine chronisch verlaufende Erkrankung, die nach durchschnittlich 6—8 Wochen zum Tode der infizierten Tiere führte und durch mehr oder weniger deutlich ausgeprägte lokale Erscheinungen charakterisiert war. Diese lokalen Erscheinungen sind speziell für die Dourine von Rouget sehr genau beschrieben, aber auch bei Nagana und Mal de Caderas beobachtet worden. Die Veränderungen bestehen in starken ödematösen Schwellungen, die sich an Lidern, Lippen, äußeren männlichen und weiblichen Genitalien lokalisieren, mitunter auch andere Stellen des Kopfes, besonders Nasenrücken, Ohrgegend und die Ohren selbst, befallen. Besonders charakteristisch sind die Schwellungen der Lider bei gleichzeitig bestehender eitriger Conjunctivitis und stärkerer Sekretion aus der Nase; ferner das Befallensein der äußeren Genitalien, bei denen besonders die starke Schwellung der Testikel auffallend ist. Bei einigen Tieren ist die Skrotalhaut über den angeschwollenen Testikeln nekrotisch geworden. Diese lokalen Veränderungen begannen gewöhnlich nach etwa 14 Tagen, bei Naganainfektion schon etwas früher. Allmählich magerten die Tiere immer mehr ab, kurz vor dem Tode stellten sich klonisch-tonische Krämpfe ein.

Was den Nachweis von Trypanosomen bei den erkrankten Tieren betrifft, so habe auch ich die bereits von vielen Seiten bemerkte Beobachtung gemacht, daß man bei der üblichen Blutuntersuchung im hängenden Tropfen sehr häufig gar keine oder nur sehr spärliche Trypanosomen findet, trotzdem deutliche Symptome der Erkrankung bestehen. Lignières fand in den Hautödemen bei Mal de Caderas-, Rouget in solchen bei Dourine-Kaninchen Trypanosomen. Ich habe fast immer bei Nagana-, Mal de Caderas- und Dourinekaninchen in dem Gewebssaft, der sich nach Einritzen der Epidermis ödematöser Hautstellen, am besten der Oberlider, ausdrücken ließ, reichlich Trypanosomen gefunden, während dieselben bei gleichzeitig vorgenommener Untersuchung der Ohrvene entnommenen Blutes nicht oder nur in sehr geringer Anzahl auffindbar waren. Trotzdem man häufig bei Untersuchung des Blutes erkrankter Kaninchen mikroskopisch Trypanosomen nicht nachweisen kann, war dasselbe, wie dies alle Autoren berichten, doch stets infektiös für Mäuse, die Inkubationszeit aber verlängert, meist 5—8 Tage, ich habe auch wiederholt bei Impfung von Kaninchen auf Maus Inkubationszeiten von 10—12 Tagen gesehen.

Wie verhalten sich nun solche Mäuse, bei denen mikroskopisch noch keine Trypanosomen nachweisbar sind?

Um zu entscheiden, ob das Blut solcher von Kaninchen infizierter Mäuse bereits vor der Möglichkeit des mikroskopischen Nachweises der Trypanosomen infektiös ist, also in der sogenannten Inkubationszeit, habe ich folgende Versuche gemacht. Von einem Mal de Caderaskaninchen wurde durch intraperitoneale Injektion einer Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung eine Maus A infiziert. Von dieser Maus A wurde täglich in der üblichen Weise durch intraperitoneale Injektion einer Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung eine neue Maus A 1, A 2 u. s. w. infiziert und gleichzeitig das Blut im hängenden Tropfen untersucht.

Bei einer solchen Versuchsreihe zeigte sich folgendes: Maus A vom Kaninchen am 24. September 1904 infiziert, zeigte am 30. September 1904 Trypanosomen im Blute und starb am 2. Oktober 1904.

Von Maus A wurden infiziert:

	infiziert am	zeigt Trypanosomen	stirbt
A 1	27. September 1904	5. Oktober 1904	9. Oktober 1904
A 2	28. „ 1904	1. „ 1904	4. „ 1904
A 3	29. „ 1904	2. „ 1904	4. „ 1904
A 4	30. „ 1904	2. „ 1904	5. „ 1904

Eine zweite derartige Versuchsreihe ergab folgendes Resultat:

Maus A am 20. Dezember 1904 vom Kaninchen intraperitoneal infiziert, hatte am 2. Januar 1905 mikroskopisch nachweisbare Trypanosomen im Blute und starb am 4. Januar 1905.

Von Maus A wurden infiziert:

	infiziert am	zeigt Trypanosomen	stirbt
A 1	21. Dezember 1904	6 Wochen später	keine Trypanosomen
A 2	22. „ 1904	10. Januar 1905	12. Januar 1905
A 3	23. „ 1904	11. „ 1905	13. „ 1905
A 4	24. „ 1904	30. Dez. 1904	1. „ 1905
A 5	26. „ 1904	1. Januar 1905	2. „ 1905

Es war also in dieser zweiten Serie das Blut von Maus A schon nach 48 Stunden infektiös, trotzdem die nach dem mikroskopischen Nachweis von Trypanosomen bemessene Inkubationszeit 13 Tage betrug. Es wäre dies also ein analoges Verhalten wie bei den Kaninchen, bei denen, wie oben erwähnt, der mikroskopische Nachweis von Trypanosomen im Blute meist negativ ist, trotzdem dasselbe sich bei Uebertragung auf die Maus als infektiös erweist.

In der zweiten Versuchsreihe habe ich bei 2 Mäusen beobachtet, daß Trypanosomen in geringer Anzahl im Blute mikroskopisch bereits nachweisbar waren, aber nach 1—2 Tagen wieder verschwanden, um 3—4 Tage darauf wieder aufzutreten und dann sich konstant zu vermehren. Es sind dies die beiden einzigen Ausnahmen, die ich gesehen habe, von der Regel, daß bei Mäusen die Trypanosomen, sobald sie einmal im Blute mikroskopisch nachweisbar geworden sind, sich konstant vermehren bis zum Tode des Tieres und daß eine Verminderung oder ein Verschwinden bei unbehandelten Tieren nicht beobachtet wird. Laveran und Mesnil erwähnen, daß sie solche vorübergehende Verminderung der Trypanosomen im Blute von Mäusen gesehen haben, die von naganakranken Schweinen oder Hammeln infiziert waren und nach der Infektion 5—9 Tage lebten.

Bezüglich der Wirkung des Trypanrots auf die Mal de Caderaserkrankung der Mäuse habe ich bei einer größeren Anzahl von Versuchen dieselben Resultate erzielt, wie sie von Ehrlich und Shiga (Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankungen. [Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 13 u. 14]) angegeben wurden. Durch subkutane Injektion von 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung am Tage der intraperitonealen Infektion mit Mal de Caderas gelang es stets, den Eintritt der Erkrankung zunächst zu verhindern. Wurde das Auftreten von Trypanosomen im Blute erst abgewartet, so konnten durch die Trypanrotinjektion die Trypanosomen stets prompt zum Verschwinden gebracht werden, selbst wenn die Injektion erst 1 Tag vor dem zu erwartenden Exitus erfolgte. Bezüglich der Rezidive sind dieselben Erfahrungen gemacht worden, wie sie von Ehrlich und Shiga ausführlich angegeben sind.

Annähernd dieselben Resultate bezüglich der Wirkung des Trypanrots, wie sie bei Mal de Caderas an Mäusen konstatiert wurden, habe ich bei Dourineversuchen an Mäusen gemacht. Auch hier ließ sich stets prompt durch gleichzeitig mit der intraperitonealen Infektion vorgenommene subkutane Injektion von 0,5 ccm 1-proz. Trypanrotlösung der Eintritt der Erkrankung verhindern, bereits im Blute nachweisbare Trypanosomen verschwanden nach der Trypanrotinjektion ebenso wie bei Mal de Caderas. Auch bezüglich der Rezidive weichen die Ergebnisse nicht von den bei Mal de Caderas ab. Laveran und Mesnil erwähnen ebenfalls die prompte Wirkung des Trypanrots bei Dourine der Mäuse, aber auch das frühere oder spätere Auftreten von Rezidiven. Bedeutend geringer war dagegen die Einwirkung des Trypanrots bei Nagana der Mäuse gewesen, wie dies auch bereits von Ehrlich und Shiga und Laveran und Mesnil berichtet wird. Bei rechtzeitiger Injektion des Trypanrots sind in meinen Versuchen bei Nagana allerdings auch die Trypanosomen im Blute nach 48 Stunden verschwunden, aber sehr bald, meist schon nach wenigen Tagen, Rezidive eingetreten. Keinen Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung habe ich in meinen Versuchen bei Mal de Caderas der Kaninchen gesehen. Es wurden bei einigen Kaninchen gleichzeitig mit der intraperitonealen Infektion subkutan 5,0 ccm 1-proz. Trypanrotlösung injiziert, die Tiere erkrankten aber in derselben Weise wie die unbehandelten. Auch bei einem Kaninchen, welches am Tage der Infektion, am Tage darauf und noch einmal einige Tage später je 5,0 ccm 1-proz. Trypanrotlösung subkutan erhielt, konnte der Eintritt der Erkrankung nicht verhindert werden.

Bei den mit Trypanrot behandelten Mäusen sind mir in dem Verhalten der Trypanosomen einige Besonderheiten aufgefallen. Wenn man bei einer Maus, welche bereits reichlich Trypanosomen — z. B. Mal de Caderas — im Blute zeigt, eine Trypanrotinjektion in der oben angegebenen Weise vornimmt, so sind nach 24 Stunden gewöhnlich noch reichlich, nach 48 Stunden nur noch sehr spärliche oder gar keine Trypanosomen mehr im Blute nachweisbar. Unter den nach 24 Stunden noch vorhandenen Trypanosomen findet man bei Untersuchung im hängenden Tropfen meist sehr reichlich solche, die sich in lebhafter Bewegung befinden und scheinbar noch nicht geschädigt sind. Macht man aber von einer solchen Maus in der üblichen Weise eine Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, die bei mikroskopischer Untersuchung eine reichliche Menge gut beweglicher Trypanosomen enthält, und infiziert mit dieser eine frische Maus intraperitoneal, so tritt nicht der gewöhnliche akute Verlauf der Erkrankung ein, sondern ein sehr protrahierter. Bei den ersten derartigen Versuchen habe ich geglaubt, daß die mit diesem Material infizierten Mäuse überhaupt nicht erkranken würden, da nach 14 Tagen bis 3 Wochen noch keine Trypanosomen im Blute nachweisbar waren. Diese Tiere wurden dann mit Blut von unbehandelten Mäusen infiziert und erkrankten darauf prompt in der typischen Weise. Bei weiteren Versuchen zeigte sich, daß das Blut mit Trypanrot behandelter Mäuse, welches 24 Stunden und länger nach der Injektion noch lebhaft bewegliche Trypanosomen enthält, für eine neue Maus zwar infektiös ist, daß bis zum Auftreten von Trypanosomen bei dieser aber bis zu 4 Wochen vergehen können. Von einer größeren Anzahl derartiger Versuche erwähne ich folgenden. Eine Maus A wurde am 22. November 1904 mit Mal de Caderas infiziert. Am 26. November wurden, nachdem sich bereits sehr reichlich Trypanosomen entwickelt hatten, 0,5 ccm Trypanrot subkutan injiziert. Am 27. November waren noch sehr reichlich Trypanosomen vorhanden, ebenso am 28. November, an diesem Tage starb das Tier, die Trypanrotinjektion war also zu spät erfolgt. Von diesem Tiere wurde 1 Stunde ante exitum, als das Tier bereits krampfartige Zustände zeigte, eine Blutaufschwemmung, welche sehr reichlich gut bewegliche Trypanosomen enthielt, einer Maus B intraperitoneal injiziert. Bei dieser Maus B waren erst 11 Tage nach der Infektion Trypanosomen im Blute nachweisbar.

Dieselben Ergebnisse hatte ich bei dieser Versuchsanordnung mit Dourine. Z. B.: Eine am 28. November 1904 mit Dourine infizierte Maus erhielt am 1. Dezember, nachdem reichlich Trypanosomen vorhanden waren, 0,4 ccm Trypanrot subkutan. Am 2. Dezember waren noch reichlich gut bewegliche Trypanosomen nachweisbar, an diesem Tage wurde eine Blutaufschwemmung intraperitoneal auf Maus B übertragen. Am 3. Dezember ist A trypanosomenfrei und blieb es bis zum 20. Dezember, wo sie an unbekannter Ursache starb. Die am 2. Dezember 1904 von A infizierte Maus B zeigte erst am 30. Dezember 1904 Trypanosomen und starb am 1. Januar 1905, also nach 4 Wochen.

Bei Nagana war dagegen die Inkubationszeit nicht erheblich, nur um einige Tage, verlängert und es dokumentiert sich auch hierin die geringere Einwirkung des Trypanrots bei Nagana.

Diese Resultate sind auffallend, wenn man dagegen folgende Tatsachen berücksichtigt. Man findet häufig bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes gestorbener Tiere nur noch unbewegliche und schwach bewegliche Trypanosomen und doch zeigt sich bei der intraperitonealen Verimpfung auf eine frische Maus, daß die Virulenz nicht oder nur wenig abgeschwächt ist. Ferner erwiesen sich Trypanosomen, die außerhalb des Tierkörpers starken Schädlichkeiten ausgesetzt waren, häufig noch in den Fällen virulent, in denen das schädliche Agens die Trypanosomen bereits unbeweglich gemacht hatte. Solche Versuche sind von Laveran und Mesnil gemacht worden, um den Einfluß der Kälte und der Hitze auf Trypanosomen zu studieren. Eine reichlich Naganatrypanosomen enthaltende Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, die durch flüssige Luft auf —191° abgekühlt war, zeigte nach einer Kälteeinwirkung von 5 Minuten bereits unbewegliche Trypanosomen, erwies sich aber bei intraperitonealer Verimpfung auf Mäuse selbst nach einer Kälteeinwirkung von 25 Minuten noch als virulent, die Inkubationszeit war nur auf 5 Tage verlängert. Nach einer 1-stündigen Einwirkung von 41° Wärme waren in den Versuchen von Laveran und Mesnil die Naganatrypanosomen unbeweglich, deformiert und fast unkenntlich geworden, waren aber noch im stande, eine Maus mit geringer Verlängerung der Inkubationszeit zu infizieren. In meinen Versuchen habe ich das Blut der mit Trypanrot behandelten Mäuse nur dann zur Uebertragung benutzt, wenn sich reichlich lebhaft bewegliche Trypanosomen in demselben befanden, und trotzdem die auffallend langen Inkubationszeiten von durchschnittlich 14 Tagen eventuell aber noch von 3—4 Wochen gesehen.

Ehrlich und Shiga nehmen an, daß nach der Injektion von Trypanrot sich im Tierkörper antiparasitäre Stoffe bilden. Ich habe nun an die allerdings nicht sehr wahrscheinliche Möglichkeit gedacht, daß bei der Uebertragung von Blut einer mit Trypanrot behandelten Maus gleichzeitig mit den Trypanosomen eine gewisse, wenn auch sehr geringe Menge dieser antiparasitären Stoffe auf die zu infizierende Maus mitübertragen wird, die im stande ist, die Weiterentwickelung der Trypanosomen in derselben zu verhindern. Es scheint mir folgende Versuchsanordnung dagegen zu sprechen. Wenn eine Blutaufschwemmung hergestellt wird, zu welcher eine geringe Menge trypanosomenhaltiges Blut einer unbehandelten Maus und eine viel größere Menge Blut einer 24 Stunden vorher mit Trypanrot behandelten normalen Maus genommen wird, so kann mit derselben eine Maus infiziert werden, ohne daß die Inkubationszeit verlängert ist.

Als Gegenstück zu den eben erwähnten Versuchen möchte ich noch folgenden anführen. Bei einer am 31. Dezember 1904 mit Mal de Caderas infizierten Maus A waren die bereits reichlich vorhandenen Trypanosomen nach einer am 4. Januar 1905 vorgenommenen Trypanrotinjektion am 6. Januar verschwunden. Am 24. Januar waren mikroskopisch spärliche Trypanosomen nachweisbar, dieselben waren am 25. reichlicher, am 26. wieder vermindert, am 27. verschwunden, ohne daß eine nachträgliche Behandlung stattgefunden hätte. Am 24. Januar wurde mit dem spärliche Trypanosomen enthaltenden Blute eine Maus B in der üblichen Weise infiziert. Bei dieser zeigten sich nach 5 Tagen Trypanosomen im Blute und sie starb nach 7 Tagen. Es handelte sich also um nur wenig in ihrer Virulenz abgeschwächte Trypanosomen, die trotzdem bei Maus A wieder spontan verschwanden.

Bereits erkrankte, durch Trypanrot geheilte Mäuse erlangen nach Ehrlich und Shiga eine vorübergehende Immunität, d. h. sie erkranken nach einer nochmaligen Infektion nicht akut. Diese Immunität erstreckt sich natürlich nur auf die Trypanosomenart, mit der das Tier ursprünglich infiziert war. Ich habe in einer Anzahl von Versuchen Mäuse, die durch Trypanrotbehandlung gegen Mal de Caderas immun geworden waren, prompt mit Dourine infizieren können; nachdem durch eine zweite Trypanrotinjektion die Mäuse wieder trypanosomenfrei geworden waren, konnten sie akut mit Nagana infiziert werden.

Mit einigen Worten möchte ich noch auf die histologischen Untersuchungen der inneren Organe und affizierten Hautstellen eingehen, zumal gerade über diesen Punkt bisher nur sehr spärliche Mitteilungen vorliegen. Speziell über den Nachweis von Trypanosomen in Organen erkrankter Tiere finden sich bisher nur wenig Angaben. In der mir zugänglichen Literatur finde ich ein Referat über einen Vortrag von Neporojny und Jakimoff „Ueber einige pathologisch-anatomische Veränderungen bei experimentellen Trypanosomen“ (Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXV. p. 467) und die neuerdings erschienene ausführliche Arbeit von Marchand und Ledingham „Ueber Infektion mit Leishmanschen Körperchen und ihr Verhältnis zur Trypanosomenkrankheit“ (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVII. p. 1).

Ich habe bei einer größeren Anzahl erkrankter Tiere, Mäuse und Kaninchen, verschiedene Organe histologisch untersucht und besonders auf den Nachweis von Trypanosomen im Gewebe Rücksicht genommen. Nach Ausprobieren verschiedener Fixierungsflüssigkeiten glaube ich die besten Resultate nach Fixierung in Sublimat-Eisessig:

Konzentr. wässer. Sublimatlösung	
Aqu. dest.	ana 150,0
Acid. acet. glac.	4,0

erhalten zu haben und habe dann nur noch dieses Fixierungsmittel angewandt. Die Trypanosomen färben sich im Schnitt mit den meisten üblichen Kernfarbstoffen. Neporojny und Jakimoff benutzten

Safranin und Indigokarmin, man kann auch die Romanowskische oder Giemsasche Färbung mit einigen Modifikationen benützen.

Am einfachsten schien mir eine Färbung mit polychromem Methylenblau, das auch von Marchand und Ledingham in der oben erwähnten Arbeit als vorteilhaft gefunden wird. Sehr gut haben sich in Schnittpräparaten Nagana- und Dourinetrypanosomen färben lassen, Mal de Caderastrypanosomen färbten sich in meinen Präparaten schwerer und schlechter.

Bei trypanosomenkranken Mäusen finden sich, wenn man die Stücke unmittelbar nach dem Tode einlegt, bei der histologischen Untersuchung überall in den Blutgefäßen Trypanosomen. Die schönsten Bilder erhält man bei Schnittpräparaten der Leber, in der alle Kapillaren reichlich mit Trypanosomen angefüllt sind (Fig. 1). Aber auch in allen anderen inneren Organen und in der Haut findet man in Schnittpräparaten innerhalb der Blutgefäße mehr oder weniger reichlich Trypanosomen.

Anders liegen die Verhältnisse bei den histologischen Untersuchungen erkrankter Kaninchen. Hier habe ich in den Schnittpräparaten der inneren Organe, Leber, Milz, Niere, Lunge, keine Trypanosomen finden können. Dagegen konnte ich die Trypanosomen in den Schnittpräparaten der wie oben angegeben veränderten Hautstellen nachweisen. Besonders in den ödematös geschwollenen Lidern und in der gleichfalls ödematösen Haut der Nasengegend ließen sie sich reichlich finden. Hier liegen sie aber nicht wie bei den Mäusen innerhalb der Gefäße, sondern zwischen den durch das Oedem auseinandergedrängten Gewebszellen unterhalb des Epithels bis tief ins subkutane Bindegewebe hinein; innerhalb der Blutgefäße habe ich sie dagegen bei Kaninchen nie gefunden.

Auf die übrigen Veränderungen will ich hier nicht näher eingehen, nur noch auf die eigentümlichen Hodenanschwellungen hinweisen, die, wie oben erwähnt, ein ziemlich konstantes Symptom bei den trypanosomenkranken Kaninchen darstellen. Bei der histologischen Untersuchung solcher Hoden fand sich zwischen den Hodenkanälchen eine sehr reichliche Rundzelleninfiltration, das Epithel der Hodenkanälchen selbst war fast vollständig degeneriert, kaum hie und da noch ein Zellkern gefärbt. Trypanosomen habe ich in solchen Schnittpräparaten vom Hoden nicht finden können.

Die relativ einfache histologische Technik, wie sie mir beim Nachweise der Trypanosomen gute Dienste geleistet hat, ist kurz folgende:

Einlegen kleiner Stücke möglichst unmittelbar nach dem Tode der erkrankten Tiere in Sublimat-Eisessig. 12—24 Stunden.

Auswässern in fließendem Wasser. 24 Stunden.

Alkohol steigend und Paraffineinbettung.

Möglichst dünne Schnitte.

Färben 10 Minuten mit polychromem Methylenblau.

Abspülen in Wasser.

Einige Sekunden absoluter Alkohol (nicht zu stark entfärben!). Xylol. Kanadabalsam.

Das Gewebe ist auf diese Weise stark überfärbt und nicht gut differenziert.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Geheimrat Neisser, für die Uebertragung der Arbeit und ihm wie Herrn Oberarzt Klingmüller für das rege Interesse zu danken, mit dem sie dieselbe förderten.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Schnitt von der Leber einer an Dourine gestorbenen Maus. Sublimat-Eisessig. Polychromes Methylenblau. Leitz, homogene Immersion, Okular 1. In den Leberkapillaren zahlreiche Trypanosomen.

Fig. 2. Schnitt von der ödematösen Lidhaut eines an Nagana erkrankten Kaninchens. Behandlung wie das vorige. Dieselbe Vergrößerung. Unterhalb des Epithels in dem ödematösen Gewebe zahlreiche Trypanosomen. Rundzelleninfiltrat.

Nachdruck verboten.

Strongyloides Fülleborni n. sp.

Von Dr. v. **Linstow**, Göttingen.

Mit 1 Tafel.

Herr Marine-Stabsarzt Dr. Fülleborn, z. Z. im Seemannskrankenhause und Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg, fand eine neue *Strongyloides*-Art in afrikanischen Affen und erzog in der Luft ausgesetzten Fäkalkulturen die zweigeschlechtliche, freilebende Form; er hatte die Güte, mir die Präparate zur Beschreibung zu überlassen.

Die parasitischen, hermaphroditischen oder parthenogenetischen Weibchen leben im Darm von

Anthropopithecus troglodytes, Afrika und
Cynocephalus babuin, Afrika.

Der Körper ist sehr schmal und langgestreckt (Fig. 1); das Vorderende ist verdünnt; die Länge beträgt 3,78 mm und die Breite 0,067 mm, so daß die Breite sich zur Länge verhält wie 1 : 56; die Cuticula ist glatt, am Kopfende stehen 6 kleine Lippen im Kreise; das Schwanzende ist abgerundet; die Vulva liegt erheblich hinter der Mitte; der durch sie gebildete vordere Körperabschnitt verhält sich zum hinteren wie 12 : 7; der Oesophagus ist lang und hinten ohne Anschwellung; er nimmt $^1/_4$ der ganzen Länge ein, das Schwanzende $^1/_{48}$; im Uterus liegen etwa 30 Eier, die 0,052 mm lang und 0,031 mm breit sind.

In den Exkrementen der Affen bemerkte Herr Dr. Fülleborn keine Eier, sondern nur Larven, was ihn auf die Vermutung brachte, die Art möchte eine andere als *Strongyloides intestinalis* Bavay des Menschen sein.

Diese Larven (Fig. 2) sind schlank. ihre Länge beträgt durchschnittlich 0,52—0,54 mm, die Breite 0,018—0,021 mm; das Kopfende ist abgerundet; der Oesophagus macht $^1/_4$, das Schwanzende $^1/_7$ der Gesamtlänge aus; der Oesophagus ist in der Mitte etwas verdünnt; das Schwanzende ist fein zugespitzt; die Geschlechtsorgane sind nicht entwickelt.

Diese Larven, welche massenhaft in den Faeces enthalten waren, ließ Herr Dr. Fülleborn sich an der Luft entwickeln zur freilebenden, rhabditisartigen Geschlechtsform.

Die Cuticula derselben ist ungeringelt; die Mundöffnung ist von 6 Papillen umgeben und führt in ein kurzes Vestibulum (Fig. 6 *vs*); der Oesophagus, welcher in beiden Geschlechtern $^1/_6$ der ganzen Länge einnimmt, hat einen vorderen, cylindrischen, breiten Teil, der $^2/_8$—$^7/_{11}$ des ganzen Organs ausmacht; hierauf folgt eine halsartige Verdünnung und dann eine kolbenförmige Anschwellung, die einen trichterförmigen Chitinapparat enthält, der im optischen Querschnitt wie ein Y aussieht. Das Männchen (Fig. 3 u. 4) ist 0,79 mm lang und 0,042 mm breit; der fein zugespitzte, eingekrümmte Schwanz mißt $^1/_{15}$ der Körperlänge; die beiden säbelförmig gebogenen Cirren sind 0,039 mm lang und hinter ihnen liegt ein rhombischer, 0,023 mm langer Stützapparat; vor der Kloakenöffnung steht jederseits eine präanale und in der Mitte des Schwanzes eine postanale Papille (Fig. 4 *pp.*).

Das Weibchen hat eine Länge von 0,87—0,92 und eine Breite von 0,055—0,065 mm; die Vulva hat prominente Lippen und liegt in der Mitte des Körpers; unmittelbar hinter ihr ist der Körper ventral tief ausgeschnitten; die Verdünnung beträgt $^1/_5$ des Körperdurchmessers (Fig. 5 *v*); das zugespitzte Schwanzende nimmt $^1/_6$—$^1/_7$ der ganzen Tierlänge ein; die Eier, deren man meistens 8 im Uterus findet, sind sehr dickschalig; sie sind 0,049 mm lang und 0,039 mm breit und sind farblos.

Vom Genus *Strongyloides* kennt man jetzt außerdem 3 Arten.

Strongyloides intestinalis Bavay

= *Anguillula intestinalis* und *stercoralis* Bavay,
= *Leptodera intestinalis* Cobbold,
= *Rhabdonema strongyloides* Leuckart,
= *Pseudorhabditis intestinalis* Perroncito.

Die Art lebt im Darm des Menschen in Cochinchina, auf den Antillen, in Brasilien, in Afrika, Sibirien, Europa (Italien, Belgien, Niederlande, Ostpreußen).

Das im Darm lebende Weibchen ist 2,2 mm lang und 0,034 mm breit; der Oesophagus nimmt $^1/_4$, der Schwanz $^1/_{18}$ der ganzen Länge ein; die Vulva teilt den Körper im Verhältnis von 12:5; die Cuticula ist quergeringelt, am Kopfende stehen 3 Lippen; der Uterus enthält 5—9 Eier, die 0,067—0,070 mm lang und 0,037—0,045 mm breit sind; diese Eier erscheinen massenhaft in den Faeces.

Die Larve der parasitischen Form, welche in Kulturen an der Luft erzogen wurde, ist 0,21—0,24 mm lang und 0,025 mm breit; der Oesophagus ist $^1/_5$, der Schwanz $^1/_{6,5}$ der ganzen Länge groß.

In der Beschreibung der freilebenden Geschlechtsform folge ich meistens den Angaben Perroncitos.

Das Männchen hat eine Länge von 0,68 und eine Breite von 0,034 mm; der Oesophagus ist $^1/_{7,1}$, der Schwanz $^1/_{8{\cdot}5}$ der Gesamtlänge groß; die vordere Oesophagusanschwellung macht $^{56}/_{96}$ des ganzen Organs aus; am Schwanzende stehen jederseits 3 präanale Papillen, postanale fehlen.

Das Weibchen ist 0,950 mm lang und 0,052 mm breit; der Oesophagus nimmt $^1/_{8{\cdot}2}$, der Schwanz $^1/_{11{\cdot}9}$ der ganzen Länge ein; die vordere Oesophagusanschwellung beträgt $^{64}/_{116}$. Die Vulva liegt nicht ventral, sondern rechts, sie teilt den Körper im Verhältnis von 79:80; der Körper ist hinter ihr nicht verdünnt; im Uterus liegen etwa 42 Eier, von denen 12 den entwickelten Embryo enthalten; sie sind dünnschalig, gelblich oder bräunlich, und 0,070 mm lang und 0,045 mm breit; die Larve der freilebenden Form ist 0,20—0,30 mm lang und 0,014—0,016 mm breit; der Oesophagus mißt $^1/_4$, der Schwanz $^1/_7$ der ganzen Länge.

Strongyloides longus Grassi und Segré,

= *Strongyloides suis* Lutz,

aus *Ovis aries*, *Sus scrofa*, *Lepus cuniculus*, *Foetorius vulgaris*, *Foetorius putorius* und *Mus decumanus*, in Europa, ist 6 mm lang.

Strongyloides viviparus Probstmayer.
= *Anguillula*, *Oxyuris*, *Rhabdonema vivip.*,
aus *Equus caballus,* Europa, ist 2,5 mm lang.

Tafelerklärung.

ö Oesophagus; *d* Darm; *v* Vulva; *n* Nervenring; *b* Bulbus; *vs* Vestibulum; *a* Anus; *s* Spiculum; *st* Stützapparat; *p* Papillen.

Fig. 1. Parasitisches Weibchen.
Fig. 2. Von ihm produzierte Larve.
Fig. 3. Freilebendes Männchen.
Fig. 4. Dessen Schwanzende, stärker vergrößert.
Fig. 5. Freilebendes Weibchen, von rechts.
Fig. 6. Kopfende der freilebenden Geschlechtsform.

Nachdruck verboten.

Dipylidium caninum (L.) als Schmarotzer des Menschen.

Von **F. Zschokke,** Basel.

Vor einiger Zeit berichtete ich (3) über eine Beobachtung des Vorkommens des weitverbreiteten Hunde- und Katzenbandwurmes *Dipylidium caninum* (L.) im Dickdarm eines etwa 40-jährigen Mannes. Zu den mit Sicherheit festgestellten 36 Fällen, in denen der Cestode als Schmarotzer des Menschen angetroffen wurde, kann ich heute Daten über einen weiteren Befund fügen.

Aus dem Kinderspital zu Basel erhielt ich Gliedstrecken von *D. caninum*, und Herr Sekundärarzt Dr. J. Fahm teilte mir in sehr verdankenswerter Weise über den Fall etwa folgende Notizen mit. Dem Patienten, einem ungefähr 4-jährigen Knaben, der seit längerer Zeit kränkelte und stark abmagerte, wurden 5 oder 6 Exemplare der Tänie von 12—15 cm Länge abgetrieben. Die Gegenwart der Würmer ließ sich durch den Abgang von Proglottiden leicht erkennen. Auch über die Infektionsquelle herrscht kein Zweifel, da der Parasitenträger sehr viel mit Haushunden verkehrte und seine Pflege und Haltung zu Hause an Reinlichkeit zu wünschen übrig ließ.

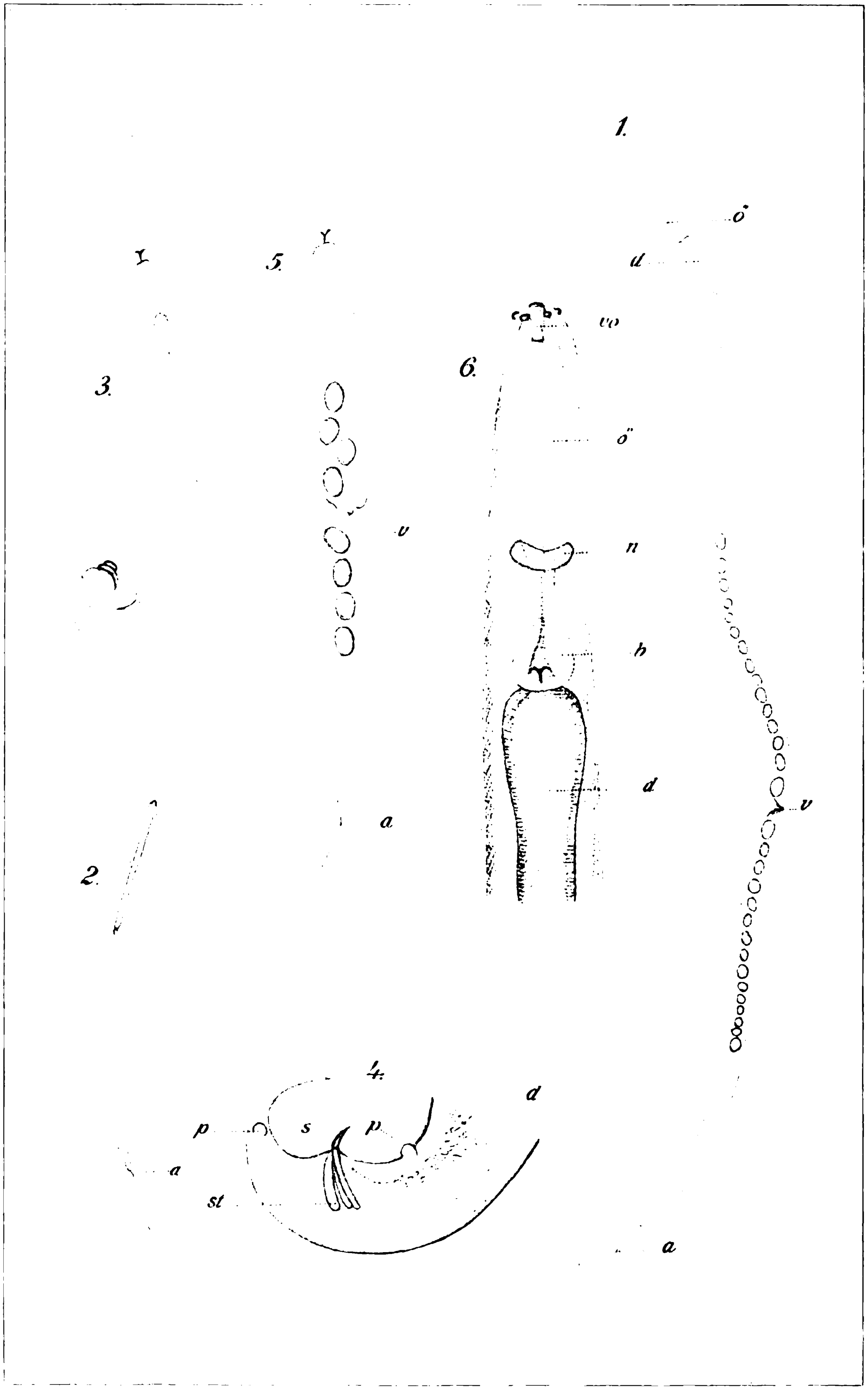
Aus der Schweiz liegen nun 7 Beobachtungen über Parasitismus von *D. caninum* im Menschen vor, 5 aus Zürich und 2 aus Basel. Auffallend bleibt es, daß, im Gegensatz zu den sonst gesammelten Erfahrungen, der Schmarotzer in der Schweiz sich häufig in erwachsenen Personen einstellt.

Seit meiner früher veröffentlichten Notiz fanden Braun (1) und Köhl (2) den Bandwurm bei Kindern. Besonderes Interesse verdient der von dem letztgenannten Autor beschriebene Fall wegen des jugendlichen Alters des Patienten. Das mit dem Wurm behaftete Kind war erst 40 Tage alt.

Literatur.

1) Braun, M., Fußnote zum Aufsatz des Verfassers im Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 1.
2) Köhl, O., Taenia cucumerina bei einem 6 Wochen alten Kinde. (Münch. med. Wchnschr. 1904. No. 4.)
3) Zschokke, F., Ein neuer Fall von Dipylidium caninum beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 1.)

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. I. Bd. XXXVIII. *v. Linstow*, **Strongyloides Fülleborni.**


1.
ó
d
w
6.
ö
n
b
d
v
5.
3.
v
a
2.
4.
d
p
s
p
a
st
a

v. Linstow del. Verlag von Gustav Fischer, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis ektoparasitischer Milben.

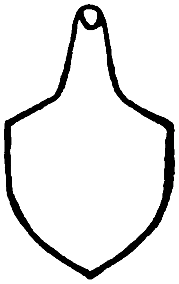
Von Dr. med. **P. Speiser**, Bischofsburg (Ostpreußen).

Mit 1 Figur.

I. Das Männchen von *Spinturnix plecoti* A. C. Oudemans.

A. C. Oudemans hat im Februar 1903[1]) eine Flughautmilbe der Ohrenfledermaus unter dem Namen *Spinturnix plecoti* neu beschrieben, kennt aber nur das Weibchen; als Vaterland ist „Deutschland" angegeben. Ich habe die Art hier in Bischofsburg auf einem *Plecotus auritus* (L.) wiedergefunden, welcher am 23. Oktober 1904 in dem von mir bewohnten Hause gefangen wurde. Da sich unter meinen Exemplaren auch ein Männchen findet, gebe ich hier dessen Beschreibung.

Die Länge ist etwas geringer als beim Weibchen, ohne das Capitulum 0,8 mm. Gestalt und Farbe wie gewöhnlich, die Beborstung der Beine stimmt ganz mit der Originalbeschreibung überein. Der Rücken bietet dieselbe spärliche Beborstung wie sie für das Weibchen beschrieben und bei meinem weiblichen Stück vorhanden ist, der Rückenschild aber ist hinten nicht breiter als vorne, sondern hat ganz die Gestalt einer Raute mit abgerundeten Ecken, wie sie Oudemans für *S. carnifex* (C. L. Koch) abbildet (l. c. Tab. 4 Fig. 51); er ist, übrigens auch beim Weibchen, mit zahlreicheren Gruben bedeckt als Oudemans zeichnet. Ventral fällt als unterscheidend den verwandten Arten gegenüber zunächst das Sternalschild in die Augen, dessen Umriß ich hier abbilde. Seine Gestalt erinnert an die üblichen botanischen Exkursionsspaten, d. h. von einer winklig scharfen Spitze aus gehen die Seitenränder in sanftem Schwunge schließlich in fast parallele Richtung über bis zu einer ebenfalls winkligen Ecke, dann stumpfwinklig abbiegend nach dem Stiel, welcher hier nach vorne zu noch etwas verjüngt wird. Die Lage dieses Schildes ist dieselbe wie bei der soeben schon genannten anderen Art. Das kleine Jugular- und die beiden winzigen Interkoxalschilder sind auch hier beim Männchen vorhanden, aber kleiner, die Lage der Drüsenmündung zum Peritrema ist dieselbe wie beim Weibchen. Das Analschild ist länger (in der Längsachse des Körpers) als breit, etwa von der Gestalt eines normal beschnittenen Fingernagels, es trägt bei meinem Stück links eine, rechts zwei winzige braune Börstchen. Vor ihnen, zwischen den Hinterhüften stehen noch 2 Paare dünner Börstchen; mehr kann ich von Beborstung nicht wahrnehmen.



II. Eine Sarkoptidenart vom Haselhuhn.

Der Freundlichkeit des Herrn Oberförster Krause in Sadlowo verdanke ich die mehrfache Gelegenheit, in seinem Forstbezirke erlegte Haselhühner (*Bonasia bonasia* L.) auf Ektoparasiten zu untersuchen. Bisher wurden solche noch nicht auf dieser Vogelart gefunden. Ich fand darauf Milben, welche einer bisher nicht beschriebenen Art der Gattung *Megninia* Berl. angehören und will sie hier beschreiben unter dem Namen

---

[1]) Notes on Acari. VII Series. (Tijdschrift d. Nederlandsch Dierkundig Vereenig. Ser. II. Deel VIII. Afl. 1. p. 17 ff. p. 32.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Megninia barthonica[1]) nov. spec.

Gehört zur Gruppe der Species Lobatae und ist unter diesen am nächsten verwandt mit *M. columbae* (Buchh.). Sie unterscheidet sich von ihr schon durch eine beträchtlichere Größe, vor allem aber durch die Beborstung der Anallappen und die Gestalt der Membran zwischen denselben, endlich durch die etwas abweichende Form des Dorns an den Vorderbeinen.

Etwa 450 μ lang und 200 μ breit. Körperform wie gewöhnlich, das Abdomen hinten ziemlich tief gespalten, die Membran zwischen den Lappen ist hinten halbkreisförmig so weit ausgeschnitten, daß sie knapp die Hälfte des Raumes ausfüllt, sonst nur die Lappen säumt. Das erste Hinterbeinpaar überragt die Spitze des Abdomens mit gut $^3/_4$ des vierten und dem fünften Gliede. Die Epimeren sind sämtlich frei und nicht untereinander verbunden. Der Dorn am vierten Gliede hat, am ersten Vorderbeinpaar deutlicher ausgesprochen als am zweiten, die Form eines schiefen Kegels; am ersten Paar ist der distale Kontur fast senkrecht auf der Achse des Gliedes, der proximale fast gerade, am zweiten Paar ist der distale nicht ganz so steil als am ersten Paar. Beborstung: Auf der Dorsalfläche ein Paar sehr langer, bis zum Beginne der Anallappen reichender Borsten in der Höhe des zweiten Beinpaares am hinteren Ende einer glatten Fläche ohne die bekannte Riefenskulptur; ein zweites Paar, kürzer, weiter auseinanderstehend, zwischen der Höhe des ersten und zweiten Hinterbeinpaares, ein Paar ebenfalls kürzerer Borsten nahe dem Seitenrande jederseits etwas vor den Anallappen. Von den Anallappen trägt jeder am Ende 3—5 dünnere und kürzere und 2 lange Borsten, welch letztere aber unter sich nicht gleich lang sind. Vielmehr ist das innere, fast genau an der Spitze der Lappen stehende Paar nur halb so lang als das äußere. Schließlich verdient noch eine sehr lange und kräftige Borste auf der Rückenfläche des vierten Gliedes des ersten Hinterbeinpaares Erwähnung. Die Analnäpfe sind einander so nahe gerückt, daß weniger als der Durchmesser des einen Zwischenraum bleibt.

♀. Wenig länger als das Männchen, von dem gewöhnlichen Umriß, Hinterende breit gerundet, von der Dorsalnaht ab leicht verschmälert. Die langen charakteristischen Borsten am Hinterleibsende sind ganz ebenso gestellt und zeigen dasselbe Längenverhältnis wie beim Männchen. Das Paar fast körperlanger Borsten auf dem Vorderschild steht viel dichter vor der Naht. Außer ihm noch zwei Paar längerer Borsten, welche auf den Seitenteilen des Hinterschildes stehen. Hinterstes Beinpaar gerade noch etwas über die Hinterleibsspitze hinausragend. Genitalöffnung etwas vor der Höhe der Epimeren des ersten Hinterbeinpaares.

Protonympha des ♂: Vor der Mitte am breitesten, verschmälert sich nach hinten rasch und ist am Ende abgestutzt, mit gerundeten Ecken. Ventral ragt über diese Ecken noch jederseits ein rundliches, bläschenförmiges, aber flaches Gebilde etwas hervor. In der Mitte des Hinterrandes eine deutliche Einkerbung, an den Ecken jederseits 2 Borsten, deren äußere etwas länger ist als die innere; daneben noch je 2

---

[1]) Barthonia = Bartenland, derjenige der elf Gaue des alten Preußenlandes, in dem der Fundort des Tieres liegt. Damit, daß ich diesen altehrwürdigen Landschaftsnamen hier benutze, folge ich im Interesse der Belebung heimischer Naturforschung gerne den Beispielen, die in den Namen der Wassermilbe *Aturus natangensis* Protz, des Schmetterlings *Melitaea athalia ab. samonica* Riesen und des Turbellars *Mesostoma masovicum* Dorner gegeben sind.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

ganz kurze Borsten. Auch die beim reifen Tiere beschriebenen langen Borsten auf dem vorderen Rückenschild sind vorhanden, aber viel kürzer.

Protonympha des ♀: Elliptisch, am Hinterende gleichmäßig gerundet, dicht vor dem Hinterrande jederseits zwei dicht nebeneinander stehende Borsten, deren innere halb so lang als die äußere ist.

Die Milben waren nicht sehr zahlreich auf den untersuchten Hühnern.

Corrigendum.

Berichtigung, betreffend Stellung einer Figur.

Von Dr. med. **P. Speiser**, Bischofsburg.

Meiner kurzen Notiz „Eine zweite Rattenlaus aus Abessinien“ auf p. 318—319 dies. Bandes ist versehentlich eine Figur beigedruckt, die durchaus nicht dahin gehört, auf die auch in der Beschreibung der *Polyplax miacantha* nov. spec. kein Bezug genommen ist. Da dieselbe aber dennoch geeignet ist, irrezuführen, sei hier besonders auf den Irrtum hingewiesen, der erst nach der Korrektur entstanden ist. Die Figur stellt das Sternalschild einer Milbe, *Spinturnix plecoti* A. C. Oud., ♂ dar und gehört in eine an dieser Stelle erschienene Arbeit, wo sie, eben am richtigen Ort, noch einmal reproduziert ist.

Nachdruck verboten.

Zur Spezifität der Antikörper.

Von Dr. **H. Lüdke**, Barmen.

(Schluß.)

Die strenge Spezifität der Niederschläge in Bouillonkulturfiltraten endlich, denen Immunserum zugesetzt ist, ist bereits in der ersten Publikation von Krauss[1]) betont worden. Der Spezifitätscharakter erstreckt sich hierbei bei Beachtung des Intensitätsgrades der Reaktion auch auf deutlich erkennbare Differenzen zwischen einzelnen Stämmen einer Bakterienart. Mit dem zur Immunisierung verwandten Stamm tritt die Fällungsreaktion im Filtrat bedeutend massiger und schneller ein als in anderen verwandten Stämmen; bezüglich der Dysenteriestämme Shiga, Müller, Flexner, Kruse konnte ich ähnliche Differenzen bemerken, worauf ich noch in einer weiteren Arbeit zurückkommen will.

Cytolysine. Die charakteristische Eigenschaft der spezifischen Wirkungsweise der Immunkörper kommt endlich den zuletzt zu besprechenden Antikörpern zu, den Cytolysinen. War jedoch bei allen bisher erwähnten Reaktionskörpern im Serum die Spezifität eine scharf präzisierte Erscheinung, so treten hier weitgehende Schwankungen, mannigfache Rezeptorenverwandtschaften auf, die bei oberflächlicher Ansicht den Spezifitätsbegriff in Frage stellen könnten. Aehnlich wie bei den Präzipitinen haben wir in diesem Falle mit einem Uebergreifen der spezifischen Wirkung auch auf andere, nicht gerade verwandte Tiere zu rechnen. Es scheint überhaupt bei allen diesen Untersuchungen der Affinitätsgrad der Species keine wesentliche Rolle zu spielen, vielmehr scheinen einzelne Zellgruppen differenter Tiere hinsichtlich ihres chemischen Aufbaues verwandte Beziehungen erraten zu lassen.

Weiter müssen wir bei den Cytolysinen vor allem der plurimistischen

---

1) **Krauss**, Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 32.

Theorie beipflichten, daß das einzelne Cytolysinelement aus einzelnen Typen, deren jedes für sich eine spezifische Wirkung hat, zusammengesetzt ist.

Bei der Betrachtung der durch den Zerfall verschiedenster Zellarten abgestoßenen Cytolysine können uns die am eingehendsten erforschten Hämolysine in vielen Beziehungen vorbildlich sein, wenngleich einige Unterschiede nicht unbeachtet bleiben dürften, so vornehmlich der, daß nur das Lysin für die Erythrocyten diese Zellart zur vollständigen Auflösung bringt, was für die übrigen Cytolysine nur in beschränktem Maße gilt.

Es überschritte den Rahmen dieses Themas, wollte ich alle bisher erzeugten Cytolysine bezüglich ihres Spezifitätscharakters anführen. Nur einige markante Exempel, ein Ueberblick über die bis jetzt vorliegenden Befunde und ein eigenes Experiment mögen genügen.

Schon bei der Erforschung der unter den Cytolysinuntersuchungen durch den Stillstand der Eigenbewegung sich auszeichnenden Spermolysinen konstatierte Moxter[1]), daß ein derartig spezifisches Serum nicht allein auf die zur Vorbehandlung dienenden Spermatozoen, sondern auch auf Erythrocyten lytische Eigenschaft besäße. Eigentümlich ist dabei, daß die Rezeptorengemeinschaft zwischen Erythrocyten und Spermatozoen nur für die spermolysinhaltigen Sera besteht, während hämolytische Sera nicht spermatozoenlösende Eigenschaften besitzen. Dem analog erzielte v. Dungern[2]) auch durch Injektion von Eiplasma spermolytische Qualitäten des Serums. Derselbe Autor[3]) wies außerdem ein scheinbar unspezifisches Verhalten eines mit Ochsen-Trachealepithel behandelten Kaninchen- und Meerschweinchenserums nach; ein solches Immunserum vermochte auch eine lösende Wirkung auf die Blutkörperchen des Rindes auszuüben. Vielleicht haben wir in diesen Versuchen über die gleichzeitige Wirkung eines cytolytischen Immunserums auf differente Zellarten einen ersten Vorstoß auf dem dunklen Gebiete der Zellverwandtschaft zu sehen.

Spezifische Veränderungen an den betreffenden Organen wurden ferner vornehmlich durch Hepatotoxine und Nephrolysine erzeugt. Alle diese Versuche wurden mit Beobachtungen klinischer wie pathologisch-anatomischer Erscheinungen unternommen. Die klinischen Erscheinungen leiteten sich aus einer Insuffizienz der betroffenen Organe ab, indem je nach dem injizierten Lysin deutlichere klinische Krankheitssymptome auftraten, die auf spezifische Veränderungen hinwiesen. Pathologisch-anatomisch ergaben sich die hauptsächlichsten Veränderungen in der größeren Mehrzahl dieser Untersuchungen in den spezifischen Organen; sie bestehen in Zerfall der betreffenden Zellen, fettiger Degeneration und eventuell in stärkerer Ausprägung der bindegewebigen Zellen.

In einigen Fällen wurden solche spezifischen cytolytischen Versuchsresultate zum Anbau neuerer Forschungsgebiete benutzt; so wurde von verschiedener Seite in die Biologie der Schwangerschaft der Begriff und die Versuche mit Syncytiolysinen eingeführt. Diese Syncytiolysine ergaben nach allgemeiner Auffassung das klinische Bild der Eklampsie, was mit der von Schmorl ausgesprochenen Ansicht der Deportation von Placentarzotten in gutem Einklang steht.

---

1) Moxter, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 4.

2) v. Dungern, Zeitschr. für allgem. Physiologie. Bd. I. 1901.

3) v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1899.

Spezifische klinische und pathologisch-anatomische Erscheinungen erhielt man weiter durch Einwirkung der Neurotoxine und Leukotoxine auf die entsprechenden Zellen. Bei den Neurotoxinen beobachteten allerdings einige Autoren, wie Boeri[1]) und Sartirana[2]), auch eine Beeinflussung der roten Blutkörperchen, wie andererseits eine Einwirkung der Hämolysine auf das Nervensystem konstatiert werden konnte. Die übrigen Cytolysine ergaben keine wesentlich abweichenden Befunde; anführen will ich nur, daß ich bei Versuchen über die Ovariotoxine zugleich hämolytische Wirkungen des ovariotoxischen Serums erhielt.

Ueberschauen wir nun die Resultate dieser Untersuchungen mit Berücksichtigung unseres Themas, so müssen wir gestehen, daß die Mehrzahl der Autoren eine spezifische Wirkung der Cytolysine für zweifelhaft hält und nur ein kleinerer Teil von einer direkten spezifischen Einwirkung wissen will.

Ein cytolytisches Serum findet, der komplizierten Zusammensetzung dieser Gegenkörper entsprechend, Angriffspunkte auch in anderen als gerade den zur Vorbehandlung verwandten Zellen und kann leicht durch Absorption seiner Teilelemente von verwandten Rezeptoren seines spezifischen Charakters verlustig gehen.

Wir unternahmen es nun, nachzuweisen, ob durch Injektion von Schilddrüsenextrakten von Hunden im Kaninchenorganismus ein für die Hundeschilddrüse spezifisch klinisch und pathologisch-anatomisches, cytolytisches Serum entstände[3]).

Vorerst will ich jedoch in aller Kürze die bislang verzeichneten Untersuchungen über die Schilddrüsenlysine erwähnen.

Demoor und van Lint[4]) erhielten bei häufigen Injektionen von frischen Hundeschilddrüsenemulsionen in die Peritonealhöhle verschiedener Tiere ein für den Hundeorganismus hochtoxisches Serum, das den Charakter des Hypothyreoidismus hervorrief. Klinisch, wie pathologisch-anatomisch wurde eine Insuffizienz der Sekretion und Atrophie der Drüse nachgewiesen. Bei einigen Hunden, denen dies cytotoxische Serum injiziert war, wies die Schilddrüse Zellhaufen mit Bildern höchst gesteigerter Funktion auf.

Ghedini[5]) konstatierte nach Injektionen von Schilddrüsenbrei von Meerschweinchen und Kälbern, der Hunden eingespritzt war, nach Monaten entzündliche Veränderungen auch in anderen Organen, wie Achsel- und Inguinaldrüsen, Niere, Leber, Milz; die Schilddrüse selbst befand sich in hyperfunktionierendem Zustande.

Sartirana[6]) injizierte Hühnern Hundethyreoiden und erhielt ein Serum mit ausgesprochener cystolytischer Wirkung auf die Schilddrüse des Hundes; das Serum rief krankhafte Erscheinungen nicht nur am Nervensystem dieses Tieres, sondern auch an dem des Meerschweinchens hervor; hier jedoch trat keine spezifische Beeinflussung der Schilddrüse auf.

Die interessantesten Befunde bietet schließlich Gontscharn-

---

1) Boeri, Ref. im Bioch. Centralbl. 1903. No. 8.
2) Sartirana, Ref. im Bioch. Centralbl. 1903. No. 7.
3) Weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand, die ich mir vorbehalten möchte, werden in Bälde erscheinen.
4) Demoor und van Lint, Ref. im Bioch. Centralbl. 1904. No. 428.
5) Ghedini, Ref. im Biochem. Centralbl. 1904. p. 247.
6) Sartirana, Biochem. Centralbl. 1903. No. 590.

kows[1]) Arbeit „Ueber die Herstellung eines für die Schilddrüse spezifischen Serums“. Gontscharnkow injizierte Kälbern in längeren Intervallen Schilddrüsenbrei von Hunden und verwandte das derart vorbehandelte Kälberserum zur Injektion von gesunden Hunden. Am 3. Tage nach der letzten Injektion traten bei dem einen Tiere typische Erscheinungen auf: unsicherer, spastischer Gang, Tränen der Augen, Zittern, deutliche, vermikuläre Zuckungen der Kaumuskulatur, erhöhte Sehnenreflexe. Nachdem innerhalb 10 Tagen eine Besserung des Befindens eingetreten war, wurde eine neue Injektion gemacht, die eine bedeutende Steigung der von der letzten Einspritzung gebliebenen Erscheinungen hervorrief. Die Schilddrüse dieses Hundes ergab auf dem Durchschnitt eine Verminderung der kolloidalen Substanz in allen Follikeln, in vielen auch ein vollständiges Fehlen derselben, in fast allen Follikeln eine Vakuolisierung und Chromatolyse der Epithelkerne. Ein zweites Experiment ergab ein gleiches Resultat, so daß Gontscharnkow zu der Annahme eines thyreoidtoxischen Serums in seinen Fällen geführt wird.

In meinem Falle lagen die Verhältnisse folgendermaßen[2]):

Einem männlichen, grauroten Kaninchen von 1850 g Gewicht wurden in Zwischenräumen von 8 Tagen — 7 Wochen lang — je 5 ccm Thyreoidextrakts, von frischen Hundeschilddrüsen gewonnen, subkutan injiziert. Danach wurde 2 Wochen lang ausgesetzt, darauf wieder 6 ccm, dann, in nächster Woche, noch 5 ccm eingespritzt. Während dieser Zeit zeigte das Kaninchen keinerlei Störungen in seinem Befinden; die Injektionen verliefen sämtlich ohne Absceßbildung. Erst in den letzten 2 Wochen nahm die Freßlust des Tieres ab, es verhielt sich apathisch und magerte stark ab. 4 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet und sämtliches Blut zur Serumgewinnung benutzt. Die Schilddrüse des Kaninchens ergab auf dem Durchschnitt diesen Befund: Es war weder eine stärkere Wucherung des interfollikulären Gewebes, noch irgend eine Chromatolyse des Drüsenepithels eingetreten; höchstens eine Verödung einzelner Follikel ergab eine geringfügige Abweichung vom normalen Kontrollpräparat. Trotz der langen, intensiven Behandlung mittels subkutaner Injektionen zeigten sich also die von Ballet und Enriquez[3]) beschriebenen pathologischen Veränderungen an der Schilddrüse nicht.

Das ausgepreßte Serum wurde nun zu Injektionen für einen männlichen, weißschwarzen, ca. 16 Pfund schweren Spitz verwandt. Zunächst wurden 15 ccm Serum in die rechte vordere Vena dorsalis pedis eingebracht. Der vorher ziemlich teilnahmlose Hund zeigte in den folgenden Tagen starkes Aufgeregtsein, seine Freßlust nahm anfänglich ersichtlich zu. Nach weiteren 3 Tagen wurden 30 ccm (4 ccm auf 1 kg Tier) intravenös injiziert. Danach trat schon am nächsten Tage ein sehr deutliches Zittern in den Extremitäten, besonders den hinteren, ein; der Gang war unsicher geworden. Das Tier bewegte sich augenscheinlich ungern auf den Beinen, versuchte sich immer wieder niederzulegen. Die Sehnenreflexe waren im Vergleich zu denen anderer Tiere stark erhöht; das Trousseausche Symptom wie in den Gontscharnkowschen Versuchen deutlich ausgeprägt. Außerdem trat eine Gewichtsabnahme von ungefähr $1^1/_2$ Pfund ein. 5 Tage nach der letzten Injektion wurde der Hund erschossen und einzelne Organe zur pathologisch-anatomischen Untersuchung fixiert. (Herrn Prosektor Dr. med. Marckwald spreche ich an dieser Stelle meinen ergebensten Dank für die freundlichst erteilten Ratschläge aus.)

---

[1]) Gontscharnkow, Ueber die Herstellung eines für die Schilddrüse spezifischen Serums. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XIII. 1902.)

[2]) Herrn Tierarzt Dr. phil. Meyer-Barmen danke ich an dieser Stelle für frdl. geleistete Unterstützung mit Material verbindlichst.

[3]) Ballet und Enriquez, Bull. de soc. méd. d. hôp. 1894. 16 nov.

Das klinische Bild, das der Hund, dessen Blut mit diesen Cytolysinen überschwemmt war, bot, war also dem Symptomenkomplex nach Exstirpation der Schilddrüse ziemlich analog. Leider entbehrten die pathologisch-anatomischen Ergebnisse — die Durchschnittsbilder der Thyreoidea dieses Tieres — fast gänzlich der von den zitierten Autoren hervorgehobenen Kennzeichen:

Leber, Milz, Lymphdrüsen, Lunge, Hoden, Herz ergeben keine Abweichungen von normalen Befunden. In der Thyreoidea war weder im interstitiellen Gewebe noch an den Epithelzellen eine charakteristische Veränderung nachzuweisen; höchstens sprachen einige Stellen für eine stärkere Zellvermehrung zu Ungunsten der follikulären Substanz. Daß nebenher in dem einen Schilddrüsenlappen eine kropfige Entartung gefunden wurde, konnte schwerlich auf Rechnung der Wirksamkeit des spezifischen Serums gesetzt werden.

Um nicht über den Rahmen unseres Themas „Spezifität der Antikörper“ zu weit hinauszugehen, haben wir nur die Spezifität der wichtigsten normalen wie der durch Immunisation gesetzten Antikörper besprochen. Die weiteste Ausdehnung gewänne die Arbeit, welche es sich zur Aufgabe machte die spezifische Wirkungsweise aller der Gegenkörper, die in der Zelle vorgebildet liegen, und nur des adäquaten Reizes zur Abstoßung ins Serum bedürfen, zu erörtern.

Wie uns Pfeiffer und Ehrlich lehrten, sind so auch die auf Injektionen eines Immunserums im fremden Organismus entstehenden Reaktionsprodukte, Antiambozeptoren und Antikomplemente, spezifischer Natur, d. h. sie wirken nur auf die zur Vorbehandlung verwandten Ausgangselemente. Auch bei diesen dem Serum abgewonnenen Reaktionskörpern müssen wir dem plurimistischen Standpunkt Ehrlichs beitreten, daß in einem derart vorbereiteten Serum eine Schar differenter, aber auf ihre zugehörigen Gruppen spezifisch eingestellter Antikomplemente und Antiambozeptoren existiert.

Seit den ersten Versuchen über die Vielheit der Komplemente und Ambozeptoren im Serum, die Ehrlich, Morgenroth und Sachs entgegen der unitarischen Anschauung Bordets anstellten, wurde in den weiteren Arbeiten über den gleichen Gegenstand der plurimistischen Ansicht Ehrlichs zum endlichen Siege verholfen.

Im Normal- und Immunserum haben wir mit differenten, einander nahestehenden Gegenkörpern zu rechnen, von denen jeder eine deutlich erkennbare, experimentell beglaubigte Spezifität zu seinem passenden Rezeptor besitzt. In aufsteigender Linie bewegt sich der Grad der Spezifität: Vom normalen, in physiologischem Gleichgewichtszustand befindlichen Serum, in dem scheinbar wahllos eine ungeordnete Reihe verschiedenster Typen von Reaktionskörpern mit geringer Ausbildung ihrer spezifischen Wirkungsfähigkeit zerstreut liegt, führt der Weg über die Sera, die sich auf der Grenze zwischen normalen und unter pathologische Zustände gesetzten Verhältnissen bewegen, bis zu dem hochwertigen, künstlich erhaltenen Immunserum, in dem ein Antikörper vollkommen in seiner Spezifität ausgebildet wurde.

Wir erkennen, daß wir die Spezifität als absoluten Charakter eines Serums nur für ein Immunserum reservieren dürfen, wo wir eine gewissermaßen neue, dauernde Qualität des Blutes geschaffen haben.

Die komplexen Alexine des normalen Serums gehören, wenn ihnen auch eine relative, d. h. eine auf passende, als verwandt erkannte Zellen und Zellenderivate bezügliche Spezifität zuzuerkennen ist, immerhin doch nicht zu den direkt spezifischen Abwehrvorrichtungen des Organismus, den Schutzvorrichtungen, die z. B. im Flimmerepithel, der Magensalzsäure, und nicht zuletzt den Leukocyten gegeben sind. In der Mobilmachung dieser Schutzkräfte spricht sich lediglich der Ausdruck der lokalen Rüstungsfähigkeit des Körpers aus, der erst durch das spezifische, gleichsam neu entstandene Reaktionsprodukt am wirksamsten komplettiert wird.

Wo schon natürlicherweise Schutzkörper oder Reaktionsprodukte im Serum vorhanden sind, kommt es bei der Infektion resp. Immunisierung zur Steigerung der relativen Spezifität zur absoluten; die eben angedeutete Funktion, Gegenstoffe sezernieren lassen zu können, erfährt durch den spezifischen Reiz den mächtigsten, vollkommenen Antrieb. Eine neue Erscheinung ist damit jedoch nicht aufgetreten; die physiologische Fähigkeit ist künstlich auf ein Uebermaß ihrer Tätigkeit gesteigert worden.

Wir kommen hiermit auf die Art resp. die Spezifität des Reizes zu sprechen.

Neben der bisher als spezifisch anerkannten einfachen Bindung des haptophoren Gliedes an seinen Rezeptor haben wir nach Wassermann[1]) vornehmlich mit der Reizwirkung der funktionellen Gruppe, die mit der Bindung einher- oder derselben vorausgeht, zu rechnen.

Diese Reizwirkung hat nun nichts Spezifisches an sich. Der Reiz ist ein gänzlich variabler Faktor, künstlich veränderlich und in der Norm auch verschieden. Normale Ernährungsprozesse vermögen, außer dem adäquaten Reiz des mit spezifischer Wirkungsintensität versehenen Bakterienprotoplasmas, die Abstoßung von Antitoxinen, Ambozeptoren anzuregen; mit Aenderungen des Stoffwechsels gehen Schwankungen in der Produktion von Reaktionskörpern einher. Die Körperzellen allein reagieren auf den nicht spezifischen Reiz mit einer spezifischen Reaktion. Wir müssen uns demnach zu dem Schritt entschließen, eine spezifische Energie der Zelle anzunehmen, wie dies von Hueppe[2]) neuerdings wieder in überzeugendster Weise betont wird. — Die spezifische, in der Zelle aufgespeicherte Energie läßt auf variable, natürliche (Ernährung) und künstlich gesetzte, ähnliche (Immunisation) Reize, ein für begrenzte Zeit nachweisbares Produkt, das Endglied einer Entwickelungsreihe vom inaktiven Zustand innerhalb der Zellhülle bis zum mit aktivem Bindungsvermögen ausgestatteten Reaktionsprodukt entstehen.

Spezifisch ist nur der in der Zelle sich abspielende Aktivierungsprozeß. Der Mittelpunkt muß daher auf die spezifische Energie der Zelle verlegt werden, die auf variable Reize, die allerdings in den Rahmen allgemeiner Stoffwechselprozesse passen, mit einer spezifischen Tätigkeit antwortet. Ueber dem Studium der spezifi-

---

1) Wassermann, l. c.

2) Hueppe, Antitoxinforschung und Hygiene. (Festschr. f. Koch. 1903.) Jena (G. Fischer) 1904.

schen Reaktionsprodukte haben wir zeitweise den Ausgangspunkt, die spezifische Zelltätigkeit, aus den Augen verloren.

Der Unterschied zwischen Normal- und Immunserum liegt äußerlich wahrnehmbar in dem quantitativ stärkeren Vorhandensein von Antikörpern; in Wirklichkeit ist den in Tätigkeit versetzten Zellen eine bestimmte Direktive erteilt, welche zunächst im Uebermaß nach der einen Richtung fortarbeitet. Diese spezifische, drüsige Funktion der Körperzellen bleibt als eine ihnen spezifische erhalten, mögen sie auch ihr Reaktionsbedürfnis auf ein geringes reduziert oder dem direkten Nachweis entzogen haben. Die Immunität bleibt länger als ein ihnen aufgeprägtes Zeichen erhalten, wovon wir uns in genügenden Beispielen überzeugen konnten. Blutentziehungen, die das Serum des Antikörpervorrats gänzlich berauben können, nehmen den Zellen nicht das Vermögen der Neuproduktion [Roux und Vaillard[1]) bezüglich der Antitoxine, Verf.[2]) bezüglich der Hämolysine].

Dem immunisierenden Experimentator liegt nun die Reizbeeinflussung in der Hand, d. h. zunächst die Beeinflussung durch den wirksamsten, den adäquaten Reiz, und diese spezifische aktive Immunisierung vermag in mannigfacher Weise modifiziert zu werden, um die Ausarbeitung der Spezifität durch eine gewisse Reizintensität ins Werk zu setzen. So versucht man durch Imitation des physiologischen Vorgangs, des Zerfalls der Bakterien im Organismus, durch vorherige Auflösung und freiere Entfaltung ihrer wirksamen Komponente, eine größere Menge von spezifischen Reaktionskörpern zu erzielen.

Die Spezifität der sezernierenden Körperzellen ist endlich abhängig von der Ausbildung der wirksamen Komponenten des Bakterienprotoplasmas und der Modifikationsfähigkeit der Zellen selbst, gewisse Elemente zu passenden Rezeptoren einzustellen.

Wir lernen damit auch die frühere Ausdrucksweise von einem „geeigneten Organismus“ durch den Spezifitätsbegriff besser zu würdigen.

Den spezifischen Prozeß der Bindung des haptophoren Gliedes an seinen Rezeptor erkennen wir besser, wenn wir uns bewußt bleiben, daß ein ins Serum abgestoßenes aktives Element eine Qualität der Zelle, in der sich der erste und eigentliche spezifische Prozeß abspielte, mitgenommen hat.

Bisher haben wir uns mit einer morphologischen und biologischen Gesetzen folgenden Registrierung der Infektionsträger zufriedengestellt; eine andere Perspektive eröffnet sich, wenn wir der Reaktion und spezifischen Gegenreaktion des befallenen Organismus eine größere Beachtung und Würdigung schenken.

Für den Augenblick erscheinen die Resultate dieser Forschungen noch zu kompliziert und einer oberflächlichen Anschauung nicht in allen Punkten präzisiert genug.

Die Komposition der Körperzellen wie Bakterienzellen aus einzelnen Elementen, die gegenseitig eine spezifische Bindung erfahren können, erschwert einfachere Anschauungen und gibt in der bislang angewandten Methodik, der elektiven Absorption der aufeinander passenden Elemente, keine durchaus einwandsfreie Versuchstechnik an die Hand.

---

1) **Roux** et **Vaillard**, Contribution à l'étude du tétanos. (Ann. de l'Institut Pasteur. 1893.)

2) **Lüdke**, Beiträge zur Hämolyse. (Centralbl. für Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. Heft 2/3.)

Jedenfalls aber müssen wir unbedingt daran festhalten, daß wir in der spezifischen Tätigkeit der Körperzellen zunächst einen Maßstab für die Beurteilung der einzelnen dieser spezifischen Tätigkeit entspringenden Reaktionsprodukte gegeben haben.

Für die freundliche Ueberlassung der Hilfsmittel der bakteriologischen Untersuchungsstation zu Barmen danke ich dem Leiter des Instituts, Herrn Prosektor Dr. Marckwald, ergebenst.

Nachdruck verboten.

Ueber die Hämolysinbildung durch Injektion kleinster Mengen von Blutkörperchen und über den Einfluss des Aderlasses auf die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beim Kaninchen[1].

[Aus dem kgl. hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von Privatdozent Dr. **Friedberger,** I. Assistenten am Institute
und Dr. **Dorner.**

1. Immunisierung von Kaninchen mit kleinsten Mengen von Erythrocyten.

Durch die Untersuchungen des einen von uns (Festschr. zum 70. Geburtstag E. v. Leydens) ist es bekannt, daß zur Bildung bakteriolytischer Choleraambozeptoren im Kaninchenkörper bei intravenöser Injektion außerordentlich geringe Mengen des bei 60° abgetöteten Virus genügen, um noch eine beträchtliche Bildung von Antikörpern hervorzurufen. So vermochte die intravenöse Injektion von $^1/_{1000}$ Oese Cholera einen Titer von durchschnittlich 3 mg zu erzeugen.

Es schien uns nun von Interesse, zu untersuchen, ob sich auch mit entsprechend kleinen Mengen von Blutkörperchen bei intravenöser Injektion die Bildung einigermaßen beträchtlicherer Mengen von Hämolysinen nachweisen ließe. Wir stellten diese Versuche zunächst an Kaninchen an, denen mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Ziegenerythrocyten in 5-proz. Lösung in die Ohrvene injiziert wurden.

Es ergab sich in einer Reihe von Versuchen, daß noch Mengen von 1—$^1/_2$ mg der 5-proz. Erythrocytenaufschwemmung genügten, um die normale geringe hämolytische Kraft des Kaninchenblutes für Ziegenblutkörperchen auf das 5- bis selbst 20-fache des Normalwertes zu steigern. Als Grenzdosis der Blutkörperchen zur Erzeugung einer deutlich nachweisbaren Vermehrung der hämolytischen Ambozeptoren ergab sich uns eine Menge, die in den einzelnen Versuchen zwischen 2 und 0,5 mg der 5-proz. Lösung lag.

Wenn wir die Zahl der Erythrocyten bei der Ziege mit 9 Millionen pro Kubikmillimeter annehmen (cf. Hermann, Lehrb. d. Physiologie), so genügen nach unseren Versuchen 300000—900000 Erythrocyten der fremden Tierspecies, um, dem Kaninchen intravenös beigebracht, einen deutlichen hämolytischen Titer zu erzeugen.

---

[1] Wir beschränken uns hier auf eine kurze Darstellung der Resultate unserer Versuche; die ausführlichen Versuchsprotokolle und genauen Literaturangaben sind nebst weiteren experimentellen Beiträgen zur Hämolysinlehre in der Dissertation von Dorner-Königsberg i. Pr., 1905, niedergelegt.

Für Bakterien hatte bereits Mertens (Dtsche med. Wochenschr. 1901) den Nachweis erbracht, daß bei subkutaner Injektion zur Gewinnung eines deutlichen Titerwertes eine viel größere Vaccinmenge nötig war als bei intravenöser. In analoger Weise konnten wir beobachten, daß auch bei subkutaner Injektion von Erythrocyten bedeutendere Mengen erforderlich waren, um eine Steigerung der normalen hämolytischen Kraft des Serums zu erreichen.

Die durch intravenöse Injektion kleiner Dosen erzielten Hämolysine für Ziegenblut erwiesen sich als streng spezifisch bei der Prüfung mit dem Blute von Hund, Taube, Katze und Meerschweinchen. Es ist auch bei der Immunisierung mit kleinen Dosen vielleicht eine strengere Spezifität der Hämolysine zu erwarten als bei Injektion größerer Mengen artfremder Blutkörperchen an das Versuchstier. In letzterem Falle können kleinere Mengen von Rezeptoren der Erythrocyten, die verschiedenen Tierspecies gemeinsam sind, bei der an und für sich sehr großen Menge der eingespritzten Blutkörperchen ein nicht streng spezifisches Partialhämolysin erzeugen, wie das Ehrlich und Morgenroth in der Tat vielfach beobachtet haben.

Es sei noch erwähnt, daß auch beträchtliche hämolytische Werte, die beim Kaninchen mit kleinen Dosen erzeugt waren, in auffallend kurzer Zeit, zuweilen schon in 14 Tagen, gänzlich wieder verschwanden.

Die Möglichkeit, mit minimalen Dosen von Blutkörperchen einen bakteriolytischen Titer zu erzeugen und die Feststellung der Grenzdosis an Erythrocyten schien uns nicht nur von theoretischem Interesse zu sein. Falls diese Befunde, wie wir sie beim Kaninchen durch Injektion von Ziegenblut erhoben, sich von allgemeiner Geltung erwiesen, war uns damit eine neue, praktische Methode zum forensischen Nachweise des Menschenblutes gegeben, die gewissermaßen ein Experimentum crucis für die bisher üblichen biologischen Methoden darstellen würde.

Wenn wir bedenken, daß die Blutkörperchenmenge eines Tropfens Blut etwa der von 1 ccm einer 5-proz. Erythrocytenaufschwemmung entspricht, so schien uns mit unserer Methode der kleinen Dosen die Möglichkeit an die Hand gegeben, durch Injektion von Menschen-Blutflecken beim Kaninchen ein spezifisch hämolytisches Serum zu erzeugen. Freilich würde eine derartige Methode der von Uhlenhuth sowie von Wassermann und Schütze empfohlenen bezüglich der Bequemlichkeit der Ausführung nachstehen. Aber es mußte doch jede neue Form des biologischen Menschenblutnachweises, die in den in Betracht kommenden wichtigen forensischen Fragen zuverlässigen Aufschluß geben konnte, willkommen sein. Leider gelang es uns jedoch mit Menschenblut nicht, beim Kaninchen durch intravenöse Injektion minimaler Dosen eine auch noch so geringe Bildung hämolytischer Ambozeptoren zu erzielen. Ebenso fielen die Versuche, die an Tauben mit Menschenblut angestellt wurden, negativ aus. Wir halten es aber nicht für ausgeschlossen, daß es uns bei weiterem Suchen in dieser Richtung gelingen wird, eine Tierspecies zu finden, die für die Erythrocyten des Menschen gleich empfindlich ist wie das Kaninchen für diejenigen der Ziege. Damit wäre alsdann eine neue brauchbare und zuverlässige Methode zum forensischen Nachweis des Menschenblutes gegeben.

2. Ueber den Einfluß des Aderlasses auf die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beim Kaninchen.

Wie bereits Friedberger (Berl. klin. Wochenschr. 1903) bei Cholerabakterien gezeigt hat und C. Fraenkel (Ibid. 1905) bestätigen konnte, eignet sich die Methode der Vaccinierung mit kleinen Dosen ganz besonders, um den Einfluß gewisser Manipulationen auf die Intensität der Ambozeptorenbildung zu eruieren. Die bisherigen Versuche waren mit bakteriolytischen Seris (Friedberger, Fraenkel) resp. mit agglutinierenden (P. Th. Müller) [Arch. f. Hyg. Bd. LI] angestellt worden; wir übertrugen zum ersten Male diese Methode auf die hämolytischen Sera, um den Einfluß des Aderlasses auf die Intensität der Hämolysinbildung bei dem mit Ziegenblut vaccinierten Kaninchen zu untersuchen. Ueber den Einfluß dieses Eingriffs auf die Intensität der Bildung bakteriolytischer Ambozeptoren hatte Friedberger schon früher Versuche angestellt, über die R. Pfeiffer auf dem internationalen Hygienekongreß zu Brüssel berichtet hatte. Diese Versuche, die ein großes Tiermaterial erforderten, konnten damals aus äußeren Gründen nicht fortgesetzt werden, und wir beschlossen, sie daher jetzt auf dem Gebiete der Hämolyse wieder aufzunehmen. Gerade diese Frage schien uns von besonderem Interesse zu sein, da der Aderlaß, früher ja zum wichtigsten therapeutischen Rüstzeug des Arztes gehörend, in den letzten Jahrzehnten wieder erneut, gerade bei akuten Infektionskrankheiten als bedeutsame therapeutische Maßnahme in Aufnahme gekommen ist. Freilich fehlt bislang noch gänzlich eine zuverlässige wissenschaftliche Begründung des am Krankenbette beobachteten günstigen Effekts.

Da nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Marx sowie Wassermann die blutbildenden Organe die Bildungsstätte der Ambozeptoren sind, so war es nicht weiter verwunderlich, wenn der Aderlaß, der ja auch die morphologischen Verhältnisse dieses Organs aufs tiefste alteriert, einen Einfluß auf die Bildungsintensität der Ambozeptoren haben würde, wie das in der Tat Friedberger bei der Choleravaccination bei Kaninchen nachweisen konnte.

Bei unseren Versuchen, die wir in dieser Richtung bezüglich der Hämolysine vornahmen, gingen wir so vor, daß wir Kaninchen aus der Carotis nicht unbeträchtliche Blutmengen (10—20 ccm) entzogen und diesen Tieren zum Teil nachher, zum Teil schon vorher minimale Mengen von Ziegenerythrocyten in die Ohrvene spritzten. Die nicht zur Ader gelassenen Kontrolltiere, die sich natürlich sonst unter den gleichen Versuchsbedingungen befanden, erhielten gleichzeitig dieselben Erythrocytenmengen pro Kilogramm Tier. Ohne auf die Versuche im einzelnen einzugehen, bezüglich deren ausführlicher Protokollierung wir auf die Dissertation Dorners verweisen, wollen wir hier nur mitteilen, daß wir in 7 Versuchsreihen mit im ganzen 16 Kaninchen das übereinstimmende Resultat erhielten, daß der Aderlaß die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beträchtlich steigert[1]. In der nebenstehenden Uebersicht sind die Steigerungen der hämolytischen Kraft gegenüber den normalen Werten am 8. Tage nach der Injektion der Ziegenblutkörper-

---

[1] Nur in einer Versuchsreihe (II) waren die relativen Werte beim Aderlaßtier und Kontrolltier gleich hoch; die absoluten Werte allerdings verhielten sich wie 2 : 1 zu Gunsten des Aderlaßtieres.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Steigerung der hämolytischen Kraft des Kaninchenserums nach spezifischer Vorbehandlung.

Versuchsreihe	I	II	III	IV	V	VI	VII
Aderlaßtier	50	3	100	250	50 150	30	70 20
Kontrolltier	3	3	1	200	20	7	10

chen verzeichnet. Es ergibt sich daraus, daß durch die Injektion minimaler Mengen von Ziegenblutkörperchen die lösende Kraft des Kaninchenblutes für Ziegenerythrocyten bei den Aderlaßtieren um das durchschnittlich 80-fache, bei den Kontrolltieren aber nur um das durchschnittlich 37-fache des Normalwertes gesteigert wird. Wenn wir die individuell verschiedene lösende Fähigkeit des normalen Kaninchenblutes gegenüber Ziegenerythrocyten außer acht lassen, so ergibt sich auch bei dieser Betrachtungsweise, daß der Titer bei den Aderlaßtieren im Durchschnitt 4mal höher war als bei den Kontrolltieren. Nur in einem weiteren Falle zeigte das Kontrolltier einen höheren Wert als das Aderlaßtier, was aber wohl auf die enorme Blutentziehung von 23 ccm bei diesem Versuchstiere zurückzuführen sein dürfte. Im übrigen spricht die Konstanz der Befunde dagegen, daß individuelle Schwankungen in dem Verhalten der einzelnen Tiere die von uns angenommene Deutung der Resultate vortäuschen, zumal auch die Steigerungen des Titers durch den Aderlaß in den meisten Fällen weit höhere sind, als wir sie bei den Schwankungen des individuellen Verhaltens der vaccinierten Kaninchen zu sehen gewohnt sind.

Zusammenfassend können wir danach sagen, daß Aderlässe in nicht zu beträchtlicher Höhe beim Kaninchen die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren für Ziegenblut steigern, genau wie dies Friedberger bezüglich der bakteriolytischen Choleraambozeptoren beim Kaninchen nachgewiesen hatte. Sehr große Aderlässe scheinen allerdings, wie aus einem Versuche hervorgeht, den entgegengesetzten Effekt zu haben. Es sei noch erwähnt, daß der Einfluß des Aderlasses in den Fällen besonders stark war, in denen er nicht vor der Vaccinierung, sondern erst am 1. resp. 2. Tage nach der Injektion der artfremden Blutkörperchen vorgenommen wurde. Hier dürften die Verhältnisse denen in der menschlichen Therapie näher kommen als bei der erst erwähnten Versuchsanordnung. Immerhin verwahren wir uns ausdrücklich dagegen, aus diesen Tierexperimenten mit Hämolysinen irgendwelche weitergehende Schlüsse bezüglich der Wertung des Aderlasses in der Therapie menschlicher Infektionskrankheiten zu ziehen.

Unserem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. Pfeiffer, sind wir für das rege fördernde Interesse, welches er diesen Untersuchungen entgegengebracht hat, zu großem Danke verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Ueber Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blut.

[Aus dem pathol. anat. Inst. in Wien und dem Karolinen-Kinderhospital.]

Von Dr. **Karl Landsteiner** und Dr. **Karl Leiner.**

Es soll im folgenden über Untersuchungen berichtet werden, die sich mit der Frage beschäftigen, ob im menschlichen Blute bei pathologischen Zuständen mittels der Isolysinreaktion Substanzen nachweisbar seien, die zu den krankhaften Prozessen in Beziehung zu bringen sind. Solche Untersuchungen schienen deshalb nötig, weil zwar eine große Zahl von Angaben über pathologische Isolysine und Isoagglutinine vorliegt, die auch in die zusammenfassenden Darstellungen der Immunitätslehre Aufnahme gefunden haben, während ein sicherer Beweis für ein derartiges Vorkommen, von einem einzigen noch zu erwähnenden Fall abgesehen, bisher nicht geführt wurde.

Díe ersten dieses Thema betreffenden Angaben fallen in die Zeit vor der intensiven Beschäftigung mit den Reaktionen des Blutserums. Sie stammen von Maragliano[1]), der mitteilte, daß bei einer Reihe von Krankheiten, wie essentieller Anämie, Carcinom, Nephritis, Malaria und anderen Affektionen das Serum die Eigenschaft habe, normale Erythrocyten zu zerstören und außerdem noch deren Hämoglobin in Hämatoidin umzuwandeln. Wie der eine von uns[2]) schon früher bemerkte, sind die Beobachtungen von Maragliano[3]), die übrigens bisher, soviel wir wissen, keine Bestätigung gefunden haben, nicht den später oft beobachteten hämolytischen Eigenschaften des Serums gleichzusetzen. Sie können also bei unserer Betrachtung vollständig beiseite gelassen werden. In den späteren Arbeiten, mit denen wir uns zu beschäftigen haben, wurde dagegen das Vorkommen solcher Stoffe, die nach der heutigen Terminologie als Isoagglutinine und Isolysine zu bezeichnen sind, im menschlichen Blute sicher nachgewiesen.

Es wurde von Landsteiner[4]) gezeigt, daß bei gesunden Menschen häufig Isoagglutinine zu beobachten sind. Die Wirkung der Isoagglutinine in pathologischen Fällen schien zunächst eine besonders intensive zu sein, doch konnte darüber ein abschließendes Urteil nicht gewonnen werden. Dieser sicheren Feststellung der kaum erwarteten Tatsache, daß das Blut der Individuen einer Species leicht merklich verschieden sein kann und den fast gleichzeitigen Angaben von Shattock[5]), der Isoagglutination beim Blute fiebernder Kranker fand und diese Reaktion als für das Fieberblut charakteristisch betrachtete, folgten Mitteilungen über vermutete Beziehungen der isoagglutinierenden Stoffe zu Krankheitsprozessen.

Hierher gehören die Berichte von Grünbaum[6]), Lo Monacho und Panichi[7]), Grixoni[8]), die teils eine spezifische Reaktion für ver-

---

[1]) Maragliano, Verhandlungen des XI. Kongresses f. innere Med. 1892.

[2]) Landsteiner, Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 46.

[3]) l. c.

[4]) Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XXVII. 1900. p. 361, Wien. klin. Wochenschr. l. c. und Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1903. Heft 3.

[5]) Journ. of Patholog. and Bacteriol. Vol. VI. 1900.

[6]) Brit. medic. Journ. 1900. p. 1089.

[7]) La Riforma medic. 1901. (Ref. Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XII. 1901. p. 338.)

[8]) Gazz. degli ospedali 1901. No. 57. (Ref. Centralbl. f. innere Med. 1901. No. 38.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

schiedene Infektionskrankheiten, nämlich Typhus, Malaria, Scarlatina gefunden zu haben glaubten, teilweise wie Eisenberg[1]) an einen Zusammenhang der Erscheinung mit krankhaften Vorgängen im allgemeinen und dem bei diesen vorkommenden Blutzerfall dachten (vergl. Donath[2]).

Eisenberg fand Isoagglutinine bei normalen Individuen nur ausnahmsweise, bei Kranken viel häufiger; Isolysine wurden auch bei Kranken nicht oft angetroffen.

Auch Camus und Pagniez[3]) geben an, Isoagglutination zwar mit dem Serum verschiedener Kranker, nicht mit dem Gesunder erhalten zu haben.

Gegen einen Teil dieser Mitteilungen wurden schon früher von dem einen von uns[4]) Einwände erhoben.

Es wurde damals darauf hingewiesen, daß das Vorkommen von Isoagglutininen im Serum Gesunder ein fast konstantes ist, und dies wurde durch spätere Untersuchungen von Decastello und Sturli[5]) und Langer[6]) bestätigt. Das Verhalten konnte den anderen Untersuchern nur deshalb entgangen sein, weil die Wirkung nicht jedem Blut, sondern nur bestimmten Blutarten gegenüber sich geltend macht. Die von uns angegebene und in grober Annäherung gewiß zutreffende Einteilung der Blutarten in mehrere Typen erleichtert die notwendige passende Auswahl zum Versuch geeigneter Blutkörperchen.

Es kann also eine Besonderheit des Blutes bei Krankheiten nicht darin gesehen werden, daß es überhaupt isoagglutinierend wirkt. Demgemäß hat auch Capogrossi[7]) sich gegen die diagnostische Verwertbarkeit der Isoagglutination ausgesprochen. Immerhin wäre es aber nach dem Angeführten noch möglich, daß der Grad des Agglutinationsvermögens in pathologischen Fällen verändert sei. In diesem Sinne äußern sich Ascoli, und in einer neueren Arbeit, die ihre früheren Mitteilungen modifiziert, Lo Monacho[8]) und Panichi[9]).

Ascoli teilte mit, daß bei normalen Individuen dem Serum die Fähigkeit der Isoagglutination nur in geringem Grade zukomme, während bei pathologischen Prozessen höhere Agglutinationswerte beobachtet würden.

Namentlich fand Ascoli in Fällen von Typhus, Tuberkulose, Pneumonie und Malaria gesteigerte isoagglutinierende Wirkung. Eine ähnliche Meinung wird auch von Pace[10]) und Bezzola[11]) vertreten. Letzterer leugnet zwar den diagnostischen Wert der Isoagglutination bei Malariafällen, glaubt aber doch an eine Verstärkung des Phänomens in Krankheiten.

Da diese Angaben, wenn sie sich bestätigten, immerhin nicht belanglos wären, haben wir uns veranlaßt gesehen, einige quantitative Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen.

---

1) Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 42.
2) Wien. klin. Wochenschr. 1900. p. 497.
3) Compt. rend. de la Soc. de Biolog. 1901.
4) l. c. Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 46.
5) Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 26.
6) Zeitschr. f. Heilkunde. 1903. Heft 5.
7) R. Accadem. di Roma 1901 und Riforma medic. (Ref. Centralbl. f. allg. Patholog. 1902, 1903.
8) Münch. med. Wochenschr. 1901.
9) Riforma medic. 1902.
10) Ref. Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XIII. p. 356.
11) Riforma medic. 1902. p. 495.

Unsere Versuchsanordnung war der Vergleichbarkeit wegen identisch mit der von Ascoli.

Es wurden die menschlichen Blutkörperchen mit Kochsalzlösung gewaschen, abzentrifugiert und der Bodensatz mit dem 80fachen des Blutvolumens an Kochsalzlösung verdünnt. Diese Aufschwemmung wurde zu gleichen Teilen den Serumverdünnungen zugesetzt.

Wir verwendeten als Reagens die Blutkörperchen der gesunden erwachsenen Individuen S. und F., von deren Verhalten später noch die Rede ist, und zwar bei jedem Serum diejenige der beiden Blutarten, die die stärkere Reaktion gab. (Bei diesem Vorgehen kann ein starkes Isoagglutinationsvermögen nicht leicht übersehen werden, wohl aber, wenn das Testblut ohne besondere Auswahl genommen wird[1]).

Tabelle I.

Serum von Gesunden	Blutkörperchen	Serumverdünnung			
		1 : 10	1 : 20	1 : 50	1 : 100
A. Erwachsene					
R.	S.	+	+	+	Sp.
H.	F.	+	+	+	—
L.	S.	+	+	+	+
E.	F.	+	+	+	—
Go.	F.	+	+	+	—
H.	F.	+	+	—	—
Sch.	F.	+	+	Sp.	—
P.	S.	+	—	—	—
B. Kinder					
A.	S.	+	+	+	—
B.	F.	+	+	+	+
C.	F.	+	+	+	+
D.	F.	Sp.	—	—	—
E.	F.	+	+	Sp.	—
F.	F.	+	+	+	Sp.

Serum von Kranken	Blutkörperchen	Serumverdünnung			
		1 : 10	1 : 20	1 : 50	1 : 100
A. Erwachsene					
Tbc. pulm.	F.	+	+	+	—
Nephrit. acuta	S.	+	+	+	Sp.
Nephritis chronica	S.	+	+	+	+
Cyclische Albuminurie	F.	+	+	+	Sp.
Nephrit. acuta	S.	+	+	+	Sp.
Carcinom	F.	+	+	Sp.	—
Catarrhus intestini	F.	+	Sp.	—	—
Diabetes mellitus	S.	+	+	+	—
B. Kinder					
Typhus	S.	+	+	+	Sp.
Miliartuberk.	S.	+	Sp.	—	—
Scarlatina 1	S.	+	Sp.	—	—
Scarlatina 2	F.	+	+	+	Sp.
Pneumonie	F.	+	+	—	—
Nephrit. acuta	S.	+	Sp.	—	—
Combustio	F.	+	+	+	—

+ bedeutet Agglutination, Sp. = Spur.

Die in dieser Tabelle wiedergegebenen Bestimmungen lassen keinen Unterschied zwischen der Reaktion bei Gesunden und Kranken erkennen und zeigen, daß bei Gesunden die Wirksamkeitsgrenze bis zu ebenso starken Verdünnungen reichen kann, als sie Ascoli[2]) bei seinen pathologischen Fällen fand, nämlich bis zu einer Verdünnung des Serums von 1 : 100 und darüber. Zwar ist die Zahl der von uns untersuchten normalen Fälle nicht groß, doch da unter diesen schon mehrmals die von Ascoli angegebene Grenze erreicht wurde, so hielten wir es für nicht notwendig, die Versuche weiter auszudehnen.

Auch bei derartigen quantitativen Bestimmungen hängen die Ergebnisse von der Auswahl der verwendeten Blutkörperchen ab und es könnten einwandfreie Resultate über pathologische Veränderungen der

---

1) Vergl. Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 46. l. c.

2) Ascoli l. c.

isoagglutinierenden Wirkung nur durch große Versuchsreihen unter Berücksichtigung dieses Umstandes erzielt werden.

Außer den bisher referierten Mitteilungen über die Bedeutung der Isoagglutinine bei pathologischen Prozessen liegt eine Anzahl von Arbeiten vor, die sich mit dem pathologischen Verhalten der Isolysine befassen.

Ascoli[1]) fand bei verschiedenen namentlich infektiösen Erkrankungen ausgeprägte isolytische Eigenschaften des Serums, im Gegensatz dazu bei normalem Serum nur geringe Aktivität.

Eisenberg zieht zur Erklärung der Isolyse die Resorption der Produkte krankhaften Blutzerfalles heran, die nach seiner Ansicht ebenso zur Bildung von Antikörpern führen kann, wie in so vielen Fällen die Resorption körperfremden Zellmaterials.

Schenk[2]) hielt dementsprechend die Isolyse wie auch die Isoagglutination bei normalen Individuen im Gegensatz zu solchen, die schwere Krankheiten durchgemacht haben, für außerordentlich selten, ist aber, wie eine neue Mitteilung zeigt[3]), von seiner Ansicht zurückgekommen.

Leiner[4]) fand bei früheren Untersuchungen des Blutes infektionskranker Kinder nur bei Diphtherie mehrmals positive hämolytische Reaktion, hielt jedoch eine diagnostische Verwertung derselben für unmöglich.

Bezzola[5]) beobachtete bei der Untersuchung von 30 verschiedenen Krankheitsfällen 3mal Isolyse, Camus und Pagniez[6]) fanden bei 30 zumeist Schwerkranken 16 Fälle mit hämolytischer Wirksamkeit des Serums.

Unsere eigenen Untersuchungen nahmen wir an ungefähr 100 gesunden und kranken Kindern (2—10 Jahre alt) und einigen Erwachsenen vor. Wir hatten dabei die Vermutung, daß bei dem relativ gleichartigen Material, das besonders die infektiösen Kinderkrankheiten bieten, ein Einfluß der pathologischen Prozesse auf die Blutbeschaffenheit besonders deutlich sich zeigen könnte. Diese Versuche wurden so angestellt, daß als Testblutarten entsprechend unseren früheren Angaben[7]), zwei derart ausgewählt wurden, daß jedes der beiden Sera die Körperchen des anderen Blutes kräftig agglutinierte. Geht man so vor, so findet man, wie wir zeigten, nahezu regelmäßig Isoagglutination, und wir nahmen an, daß uns diese Anordnung auch die Auffindung von Isolysinen erleichtern werde.

Neben diesen in allen Fällen und einigen anderen gelegentlich verwendeten Blutarten prüften wir auch regelmäßig ein Blut, dessen Körper-

Tabelle II.

Serum	Blutkörperchen		
	S.	F.	L.
S.	—	+	—
F.	+	—	—
L.	+	+	—

---

[1] Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1239.
[2] Monatsschr. f. Geburtsh. und Gynäk. Bd. XIX. 1903.
[3] Kongr. f. Geburtsh. und Gynäk. 1904.
[4] Jahrb. f. Kinderheilk. 1902. p. 804.
[5] l. c.
[6] Arch. internat. de Pharmacol. et de Therap. 1902. p. 369.
[7] l. c.

Tabelle III.

Serum			Blutkörperchen		
			S.	F.	L.
Morbillen					
Fall	1	Aggl.	+	+	—
		Lyse	+	—	—
„	2	A.	+	+	—
		L.	+kompl.	+ schw.	—
„	3	A.	—	+	—
		L.	—	+	—
„	4	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	5	A.	+ Sp.	+	—
		L.	—	—	—
„	6	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	7	A.	+	+	—
		L.	+ Sp.	—	—
„	8	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	9	A.	+	+	—
		L.	+ Sp.	+ Sp.	—
„	10	A.	+	+	—
		L.	+	—	—
Scarlatina					
Fall	1	A.	+	—	—
		L.	+kompl.	—	—
„	2	A.	+	+	+ schw.
		L.	+ Sp.	—	—
„	3	A.	+	—	—
		L.	—	—	—
„	4	A.	+	—	—
		L.	+ Sp.	+ Sp.	—
„	5	A.	—	+	—
		L.	—	+ fast kompl.	—
„	6	A.	—	+ schw.	—
		L.	—	—	—
„	7	A.	—	+	—
		L.	—	+ Sp.	—
„	8	A.	—	+	—
		L.	—	+ Sp.	—
„	9	A.	—	+ schw.	—
		L.	—	+ Sp.	—
Diphtherie					
Fall	1	A.	—	+ schw.	+ schw.
		L.	+ schw.	—	—
„	2	A.	+	+ schw.	—
		L.	—	—	—
„	3	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	4	A.	+	+	—
		L.	+ schw.	+ schw.	—
„	5	A.	+	+	—
		L.	+ fast kompl.	+ schw.	—
„	6	A.	—	+	—
		L.	—	+ schw.	—
Fall	7	A.	+	+	—
		L.	—	+ schw.	—
„	8	A.	+ schw.	+ schw.	—
		L.	—	—	—
„	9	A.	+	+	—
		L.	—	—	—
„	10	A.	—	+	—
		L.	—	+	+ ?
„	11	A.	+	+	—
		L.	—	—	—
„	12	A.	+	—	—
		L.	—	—	—
„	13	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	14	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	15	A.	+	+	—
		L.	+ schw.	—	—
„	16	A.	+	+	+ schw.
		L.	—	—	—
„	17	A.	+	+	—
		L.	—	—	—
„	18	A.	+ schw.	+	—
		L.	—	—	—
„	19	A.	+	+	—
		L.	+	—	—
„	20	A.	+	—	—
		L.	—	—	—
„	21	A.	+	—	—
		L.	—	—	—
„	22	A.	—	+	—
		L.	—	—	—
„	23	A.	+	—	—
		L.	+	—	—
„	24	A.	+ schw.	+ schw.	—
		L.	—	—	—
„	25	A.	+	+	—
		L.	+	+ Sp.	—
„	26	A.	+ schw.	+	—
		L.	—	—	—
„	27	A.	+	—	—
		L.	+ Sp.	—	—
„	28	A.	+	+	+ schw.
		L.	—	—	—
„	29	A.	+	+	—
		L.	+	—	—
„	30	A.	+	+ schw.	
		L.	+	—	—
„	31	A.	+	+	—
		L.	—	—	—
„	32	A.	+	+	+ schw.
		L.	+komp.	—	—
„	33	A.	+	+	—
		L.	+komp.	+	—

Serum		Blutkörperchen		
		S.	F.	L.
Osteomyelitis	A.	+	+	—
	L.	+	—	—
Malaria	A.	+	+ schw.	—
	L.	+ schw.	—	—
Hämorrhag.	A.	+ schw.	+ schw.	—
Diath.	L.	—	—	—
Tuberkulose	A.	+	+	—
(Erw.)	L.	+	+ schw.	—
Septikämie	A.	+	—	—
(Erw.)	L.	—	—	—
	A.	+	—	+
	L.	—	—	+
Myxödem	A.	+	+	—
	L.	+	—	—
Pneumonie	A.	+	+ schw.	—
	L.	—	—	—
Rheum. artic.	A.	+ schw.	—	—
	L.	—	—	—
Pneumonie	A.	+	+ schw.	—
Fall 2	L.	—	—	—
Eryth. nodos.	A.	—	+	—
	L.	—	—	—
Ikterus	A.	+ schw.	+	—
	L.	+ schw.	—	—
Ikterus	A.	+	—	—
Fall 2	L.	—	—	—
Vitium cord.	A.	+	+	—
	L.	+ Sp.	—	—
Pneumonie	A.	+ schw.	+	—
Fall 3	L.	—	—	—
Pneumonie	A.	+	+ schw.	—
Fall 4	L.	—	—	—
Vitium cord.	A.	+	—	—
Fall 2	L.	+	—	—
Vitium cord.	A.	+ schw.	+ schw.	—
Fall 3	L.	—	—	—
Typhus	A.	+ schw.	+	—
	L.	—	+	—
Tänie	A.	—	+	—
	L.	—	—	—
Gesund	A.	+	—	+ schw.
	L.	—	—	—
"	A.	+ schw.	+	—
	L.	—	+ Sp.	—
"	A.	+ schw.	+ schw.	—
	L.	—	—	—
"	A.	—	+	—
	L.	—	—	+ Sp.
"	A.	+	—	—
	L.	+ fast kompl.	—	—
"	A.	+ schw.	+	—
	L.	—	—	—
"	A.	—	+ Sp.	—
	L.	—	—	—
Hysterie	A.	—	+	—
	L.	—	+	—
Scabies	A.	—	+	—
	L.	—	—	—
Hernie	A.	+ schw.	+ schw.	—
Fall 1	L.	—	—	—
Hernie	A.	+ schw.	—	—
Fall 2	L.	—	—	—
Hernie	A.	—	+	—
Fall 3	L.	+ Sp.	+ Sp.	—

chen nur in seltenen Fällen agglutiniert wurden, dessen Serum nahezu auf alle agglutinierbaren Körperchen wirkte. Das Verhalten der 3 hauptsächlich verwendeten Blutarten war also das folgende (s. Tab. II).

Die Verhältnisse wurden so gewählt, daß wir Serum zu gleichen Teilen mit 2,5-proz. Blutkochsalzmischung zusammenbrachten und diese Gemenge 2 Stunden im Brutofen und ca. 20 Stunden im Eiskasten ließen.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen III u. IV dargestellt.

Diese Zusammenstellungen lassen bezüglich der Agglutination keinen Unterschied zwischen Gesunden und Kranken auffinden. Bei keinem untersuchten Serum wurde die Isoagglutination vollkommen vermißt.

Isolyse war nicht so regelmäßig nachweisbar. Sie kommt offenbar um so häufiger zur Beobachtung, je mehr verschiedene Arten von Blutkörperchen mit einem Serum zur Reaktion gebracht werden.

Eine gewisse Uebereinstimmung mit der Agglutinationsreaktion besteht insofern, als starke Isolyse nur dann zu sehen ist, wenn auch Isoagglutination stattfindet. Nur ausnahmsweise, und dann in recht geringem Grade wurden solche Blutkörperchen gelöst, die von dem betreffendem Serum nicht deutlich agglutiniert wurden. Der andere Fall nämlich, starke Agglutination ohne Lyse, ist ein sehr häufiger. Die Blutkörperchen L., die nur in wenigen Fällen und fast immer nur in

Tabelle IV.

Serum		Blutkörperchen												
		Gesund	Gesund	Gesund	Pneumonie	Paroxysm. Hämoglobinurie	Enuresis	Gesund	Gesund	Pneumonie	Scarlatina	Gesund	Diphtherie	Diphtherie
		S.	F.	L.	W.	K.	A.	M.	Sp.	C.	N.	O.	L.	G.
Enuresis A.	A.	—				+								
	L.	—				+ Sp.								
Vitium N.	A.	—			—	+ schw.								
	L.	—			—	+ Sp.								
Pneumonie W.	A.	—				+								
	L.	—				—								
Gesund L. Erw.	A.	+	+		+	+		+	+	—	+	—		
	L.	+ kpl.	+		+ f. kpl.	+ f. kpl.		+ kpl.	+ kpl.	—	+ kpl.	—		
Diphtherie L.	A.	+	+	+ schw.	+	—	+ Sp.							+
	L.	+ f. kpl.	+ f. kpl.	—	+ kpl.	+ Sp.	+ schw.							+ kpl.
Diphtherie G.	A.	+ schw.	+	—	+	+	+ schw.							
	L.	—	+ f. kpl.	—	+ f. kpl.	+ kpl.	+ Sp.							
Par. Hämoglobinur. K.	A.	+	—	—	+									
	L.	—	—	—	+									
Gesund M. Erw.	A.	—	+ schw.	—		+ Sp.			—	—	+ schw.	—		
	L.	—	—	—		—			—	+ Sp.	—	—		
Gesund Sp. Erw.	A.	—	+	—		+		+ schw.				—		
	L.	—	+	—		+		+				—		
Vitium S.	A.	+ schw.	+ schw.	—		+	—	+ schw.						
	L.	—	—	—		—		—	—					
Gesund S. Erw.	A.		+	—		+		+	—				+	—
	L.		—	—		+ Sp.		—					+ schw.	—
Gesund F. Erw.	A.	+		—		—		+	+					
	L.	+ Sp.		—		—		—	—					
Scarlatina N.	A.		+ schw.			+ schw.			—	—		—		
	L.		+ Sp.			—			—	—		—		
Gesund O. Erw.	A.		+			+			+					
	L.		—			—			+					
Gesund L.	A.	+ schw.	—	—		—								
	L.	—	—	—		—								
Chorea N.	A.	—	+	—		+								
	L.	—	+	—		+								
Pneumonie N.	A.	—	+ schw.	—		+ schw.								
	L.	—	—	—		—								
Diphtherie K.	A.	+ Sp.	+	—		+								
	L.	—	—	—		+ Sp.								
Diphtherie L.	A.	—	+	—		+								
	L.	—	—	—		—								
Diphtherie R.	A.	—	+	—		+								
	L.	—	+	—		—								
Vitium Sr.	A.	+ schw.	+	—		+								
	L.	—	+	—		+								

Alle Sera der Tab. III u. IV mit Ausnahme der mit Erw. bezeichneten stammen von Kindern.

geringem Grade agglutiniert werden, waren auch sehr selten und nur in geringem Maße lösbar.

Bei der Prüfung der Blutkörperchen S. und F. mit verschiedenem Serum zeigt es sich, daß bald die eine, bald die andere Art empfindlich ist, so daß man nicht, wie geglaubt wurde, eine einfache Skala von schwer zu leicht löslichen Körperchen aufstellen kann.

Beim Vergleich des Blutes von Gesunden und Kranken lassen sich auch bezüglich der isolytischen Wirksamkeit aus den Tabellen keine deutlichen Unterschiede ablesen. Es besaßen in mehreren Fällen die Sera vollkommen gesunder Kinder und Erwachsener, auch solcher, die früher nie schwer krank gewesen waren, starke hämolytische Wirksamkeit und die Häufigkeit des Lösungsvermögens bei den beiden Gruppen ist nicht erheblich verschieden. Auch das Blut eines hämoglobinurischen Kindes ließ bei der direkten Prüfung auf Isolyse Besonderheiten nicht erkennen.

Demnach ist die isolytische Wirksamkeit des menschlichen Blutserums ebenso wie dies sicher für das Vermögen der Isoagglutination gilt, sehr wahrscheinlich eine physiologische Eigenschaft.

Man hat also wohl beide Wirkungen (auch mit Rücksicht auf das nicht seltene Vorkommen im Kindesalter) nicht als Folge stattgehabten Blutzerfalls anzusehen, sondern als Ausdruck physiologischer individueller Blutdifferenzen, die den Unterschieden des Blutes zwischen verschiedenen Tierarten vergleichbar sind.

Wir können aus unseren Resultaten keineswegs schließen, daß pathologische Hämolysine nicht vorkommen. Tatsächlich wurden krankhafte und selbst die Krankheitserscheinungen direkt verursachende Auto- und Isolysine mit einer besonderen Versuchsanordnung bei Fällen von paroxysmaler Hämoglobinurie sicher nachgewiesen [1]). Da unser Material nicht groß ist und wenige Krankheitstypen einschließt, so können wir natürlich keineswegs behaupten, daß nicht auch mit der hier angewendeten Methode des einfachen Zusammenbringens von Blut und Serum verschiedener Individuen späterhin pathologische Lysine oder Agglutinine aufgefunden werden könnten, wenn auch die vorliegenden Angaben, wie wir meinen, keinen Beleg dafür enthalten; doch schien es uns selbst nicht aussichtsvoll, die Arbeit, ohne besondere Anhaltspunkte zu besitzen, in gleicher Weise fortzuführen. Möglicherweise sind die Beobachtungen von Klein (Wien. klin. Wochenschr. 1901) einer verstärkten Autoagglutination bei hypertrophischer Lebercirrhose von pathologischer Bedeutung.

---

[1]) Donath und Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 36.

Nachdruck verboten.

Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis.

[Aus dem Statens Seruminstitut in Kopenhagen.]

Klinische und experimentelle Untersuchungen.

Von **Axel Jörgensen.**

Mit 44 Figuren.

(Fortsetzung.)

Kapitel II.

In 29 Fällen von klinisch sicherem Febr. typhoidea verfolgte ich die Agglutininschwingungen im Blute des Patienten.

Die Blutproben wurden in so kleinen Zwischenräumen als möglich genommen. Aus Rücksicht auf die meistens erschöpften und nervösen Patienten war es im letzten Teile der Krankheit notwendig, die Zeitintervalle mehr als vorausgesehen und wünschenswert zu verlängern.

Im folgenden sind die Journale ganz kurz referiert und nur das ist erwähnt, was ich zur Erkennung der Diagnose und der Komplikationen für notwendig erachtete.

Die Temperatur- und Agglutininkurve jedes Patienten ist in derselben Figur dargestellt (bezeichnet durch die No. des Patienten in der Reihe). Die Agglutininkurven sind nach dem gleichen Maßstabe wiedergegeben; doch in Fig. I, II, IV, XVI und XXIX im Verhältnis von 2 : 1, um die Schwingungen deutlich zu machen und in Fig. XX in halber Größe aus Platzrücksichten.

Leichtere und mittelschwere Fälle ohne Komplikationen.

I. Richard A., 3 Jahre alt. Bl. Hosp. 19. Nov. bis 19. Dez. 1901. Krank 8 Tage vor Einbringung an Milzschwellung. Status typhosus, Epistaxis, Diarrhöe. 23. Nov. afebril, 26. Nov. Wohlbefinden, 9. Dez. e. l. Klin. Diagnose: Febris typhoidea abortiva.

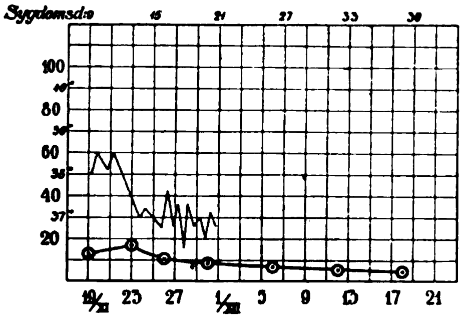


Fig. I.

II. Svend Aage R., 6 Jahre alt. Bl. Hosp. 29. Okt. bis 19. Dez. 1901. Ein paar Tage Prodromen, bettlägerig 8 Tage v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 17. Nov. afebril, 29. Nov. Wohlbef., 5. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

III. Carl H., 8 Jahre alt. Bl. Hosp. 30. Nov. 1901 bis 25. Jan. 1902. 6 Tage Prodomen, bettl. 2 T. v. Einbr. Stat. typh., Roseola, typische Diarrhöe, dikroter Puls. 26. Dez. afebril, 29. Dez. Wohlbef., 11. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

IV. Otto Thorv. Ch., 6 Jahre alt. Bl. Hosp. 14. Nov. 1901 bis 14. Jan. 1902. Krank ca. 8 T. v. Einbr. Stat. typh., typische Diarrhöe, Roseola, 14. Dez. afebril. 15. Dez. Wohlbef., 30. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t. (Rechute).

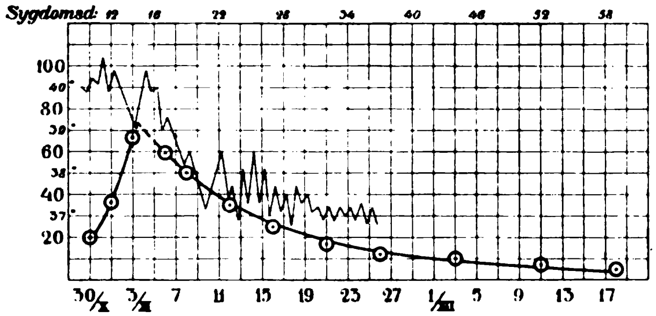


Fig. II.

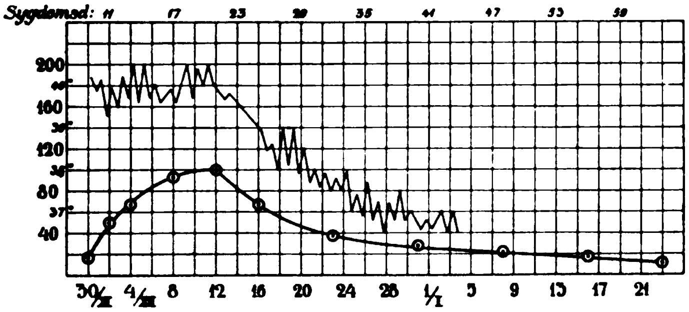


Fig. III.

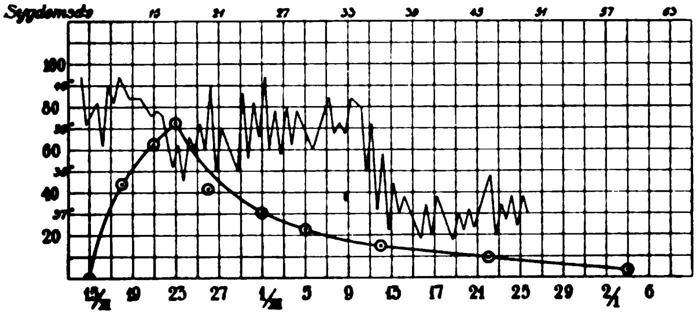


Fig. IV.

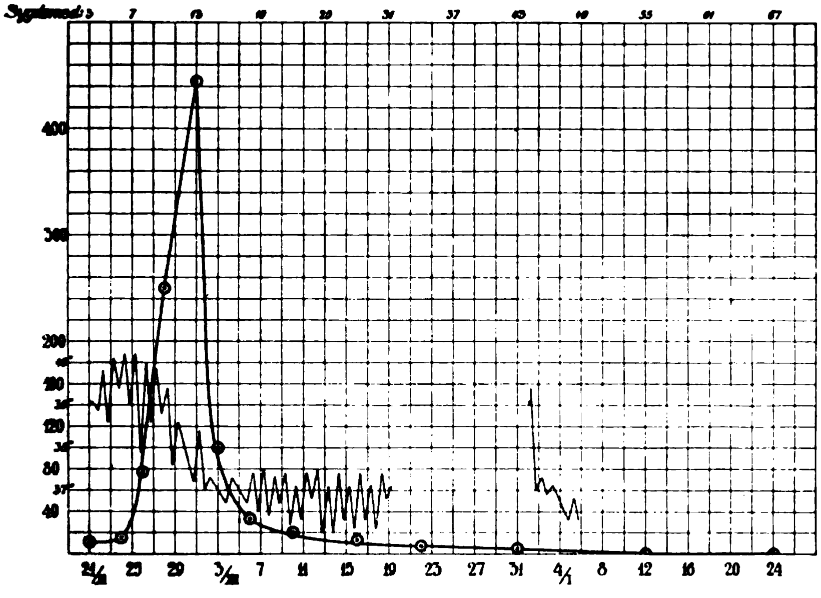


Fig. V.

V. Henry H., 10 Jahre alt. Bl. Hosp. 21. Nov. 1901 bis 12. Jan. 1902. Plötzlich erkrankt 2 T. v. Einbr. Stat. typh., zahlreiche Roseola. 3. Dez. afebril, 5. Dez. Wohlbef., 20. Dez. e. l., 1. Jan. Kopfschmerz u. Uebelkeit, tags nachher wieder Wohlbef. Klin. Diagnose: F. t.

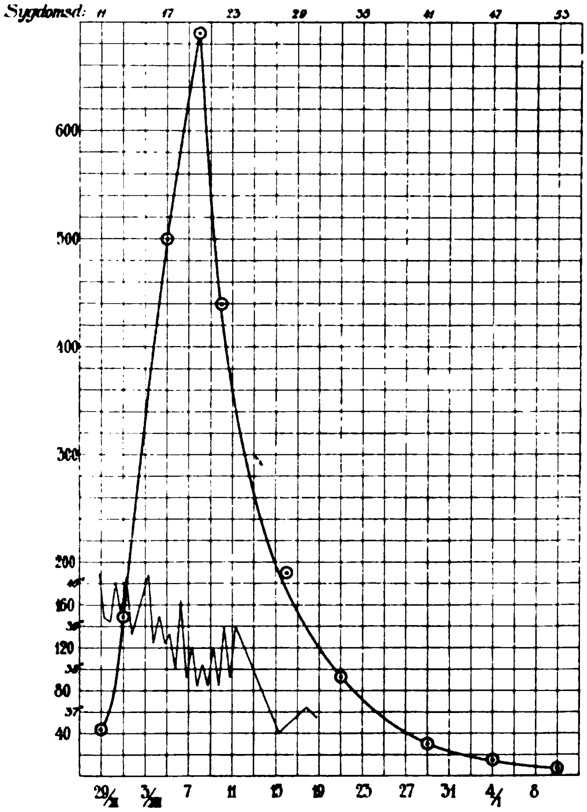


Fig. VI.

VI. Lars Evald L., 6 Jahre alt. Bl. Hosp. 29. Nov. 1901 bis 12. Jan. 1902. Ein paar Tage Prodromen, bettl. 7 T. v. Einbr. Stat. typh., Roseola, Milzschwellung, Diarrhöe. 12. Dez. Wohlbef., 14. Dez. vollst. afebril, 2. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

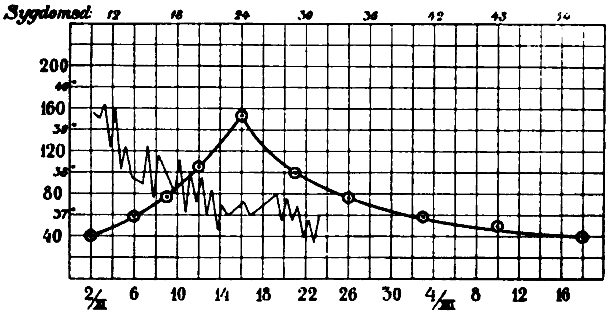


Fig. VII.

VII. Asger K., 27 Jahre alt. Bl. Hosp. 2. Nov. bis 13. Dez. 1901. 2 T. Prodromen, bettl. 7 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 13. Nov. afebril, Wohlbef., 15. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

VIII. Ane Kristine H., 37 Jahre alt. Bl. Hosp. 14. Nov. bis 29. Dez. 1901. Plötzl. krank 10 T. v. Einbr., keine Prodromen. Stat. typh., Roleola, Meteorismus, Diarrhöe. 28. Nov. afebril, Wohlbef., 15. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

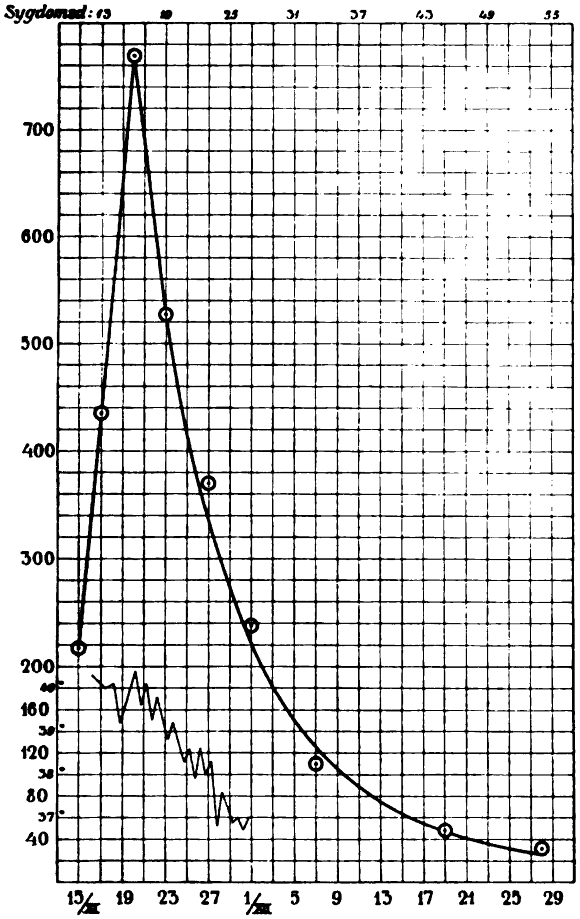


Fig. VIII.

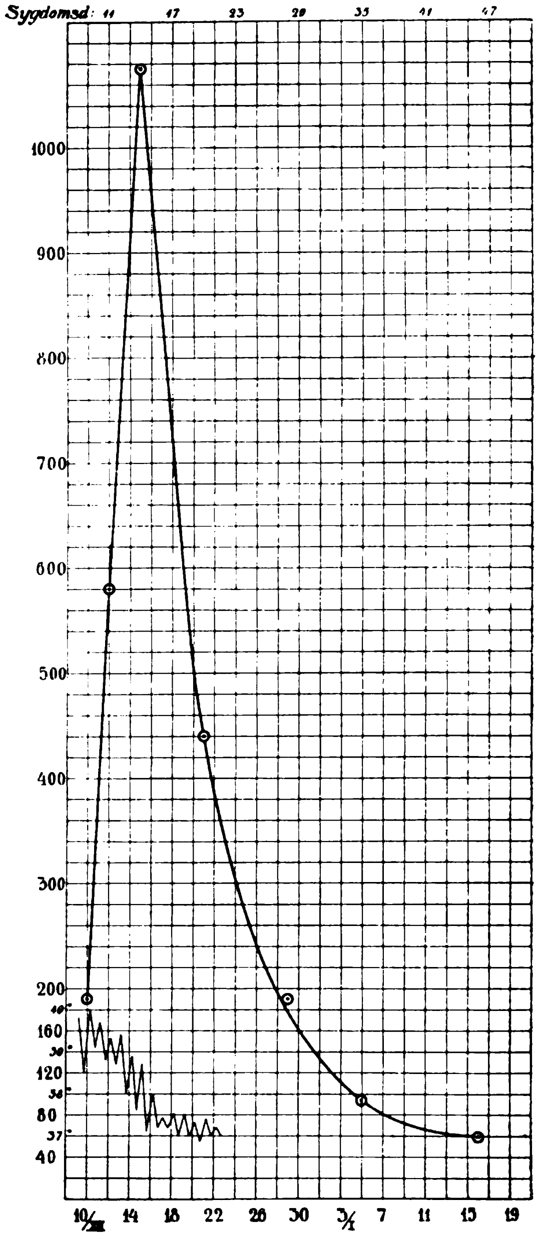


Fig. IX.

IX. **Wilhelmine** G., 29 Jahre alt. Bl. Hosp. 9. Dez. 1901 bis 19. Jan. 1902. 2 T. Prodromen, darauf ernstlich krank 6 T. v. Einbr., verrichtete aber ihren Dienst. Stat. typh., Epistaxis, Roseola, Diarrhöe. 19. Dez. afebril, Wohlbef., 5. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

X. **Johann** L., 20 Jahre alt. Bl. Hosp. 11. Nov. bis 24. Dez. 1901. Plötzlich krank ohne Prodromen 6 T. v. Einbr. Stat. typh., Epistaxis, Milzschwellung, dikroter Puls. 17. Nov. afebril, 20. Nov. Wohlbef. Klin. Diagnose: F. t.

XI. **Antomine Margrethe** H., 26 Jahre alt. Bl. Hosp. 15. Nov. bis 31. Dez. 1901. Krank 8 T. v. Einbr. ohne vorherige Prodromen. Stat. typh., Meteorismus, Diarrhöe. 1. Dez. afebril, 3. Dez. Wohlbef., 20. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

XII. **Axel** L., 7 Jahre alt (Bruder des VI.). Bl. Hosp. 25. Nov. 1901 bis 24. Jan. 1902. 1 T. Prodromen, dann bettl. 6 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Ro-

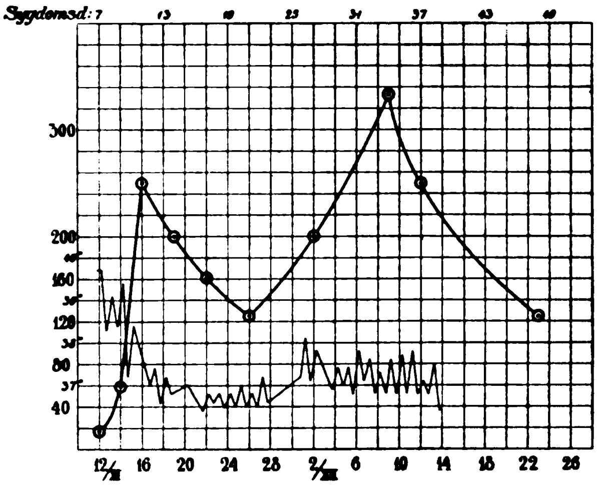


Fig. X.

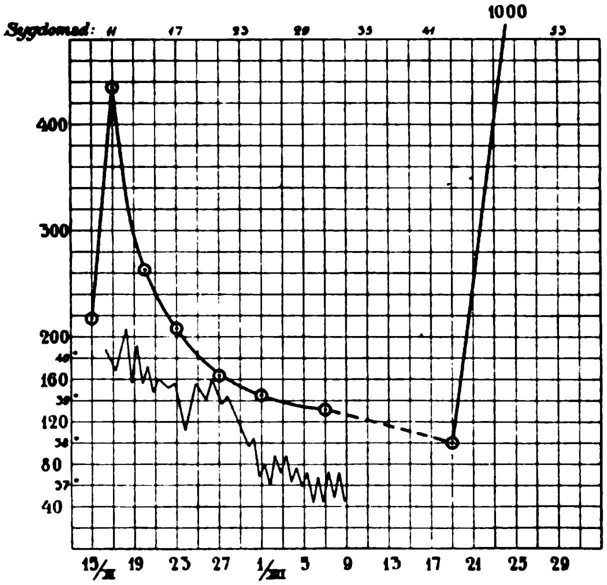


Fig. XI.

seola, Diarrhöe. 12. Dez. recht wohl und lebhaft, 15. Dez. wieder matt, Erbrechen, 20. Dez. vollst. afebril, Wohlbef., 10. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t. (Rechute).

XIII. Jens H., 12 Jahre alt (Bruder des V.). Bl. Hosp. 26. Nov. 1901 bis 19. Jan. 1902. 3 T. krank ohne Prodromen. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe, 15. Dez. afebril, Wohlbef. 31. Dez. e. l., 4. Jan. Kopfschmerz und einz. Erbrechen, t. l., 5. Jan. wieder Wohlbef., 7. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

XIV. Arthur S. N., 30 Jahre alt. Bl. Hosp. 7. Nov. 1901 bis 5. Jan. 1902. Ein paar T. Prodromen, dann bettl. 7. T. v. Einbr. Stat. typh., Epistaxis, Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 20. Nov. afebril, Wohlbef., 9. Dez. Abdomen stark aufgetrieben die letzten 2 Tage, Wohlbef., 13. Dez. Wohlbef., Abdom. nat., 22. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv l. gr.

XV. Karen O., 12 Jahre alt. Bl. Hosp. 10. Nov. 1901 bis 3. Jan. 1902. 3 bis 5 T. Prodromen, dann bettl. 7 T. v. Einbr. Stat. typh., Epistaxis, Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 21. Nov. Wohlbef., 23. Nov. afebril, 1. Dez. Wohlbef., nichts Objektives, 6. Dez. afebril, 20. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t.

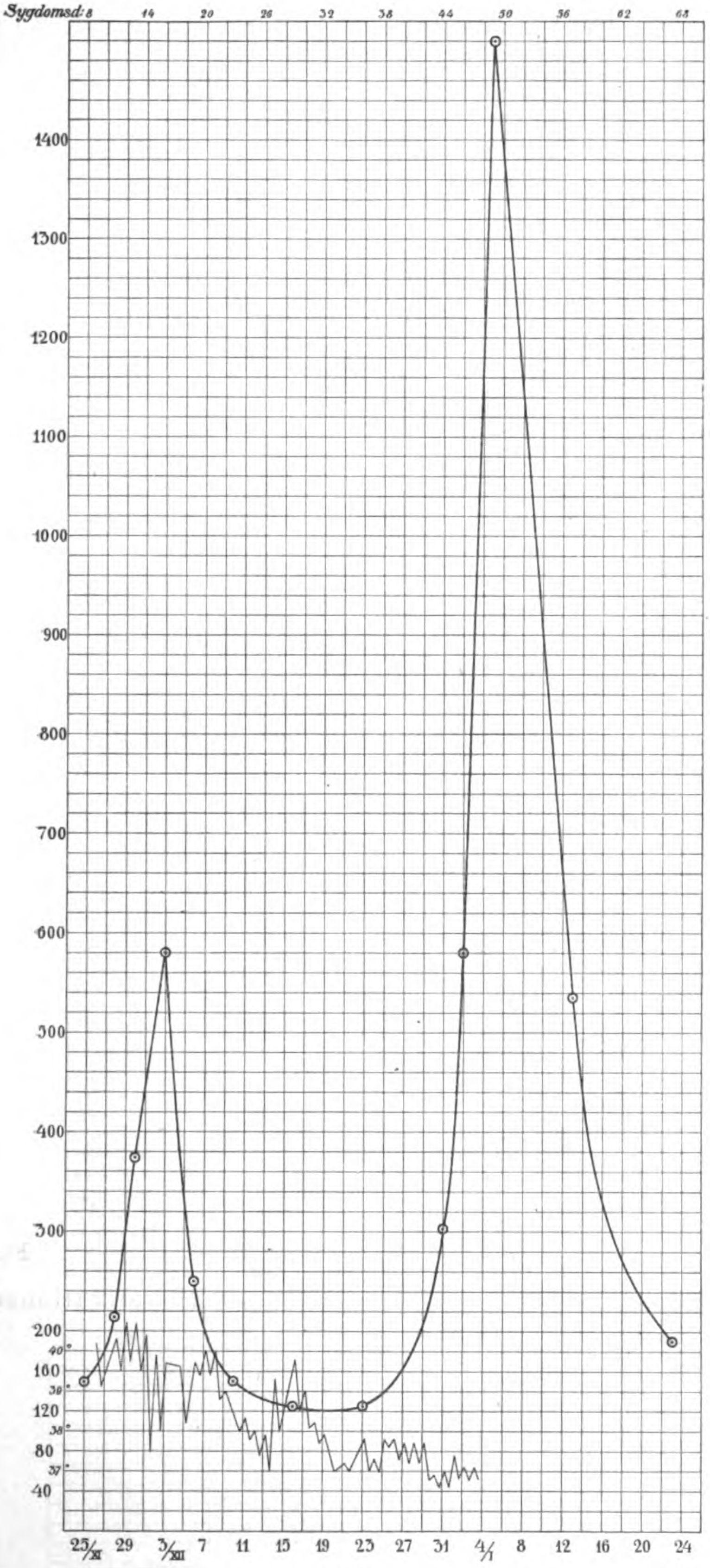

Sygdomsd: 8
14
20
26
32
38
44
50
56
62
68
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
40°
160
39°
120
38°
80
37°
40
25/XI
29
3/XII
7
11
15
19
23
27
31
4/I
8
12
16
20
24

Fig. XII.

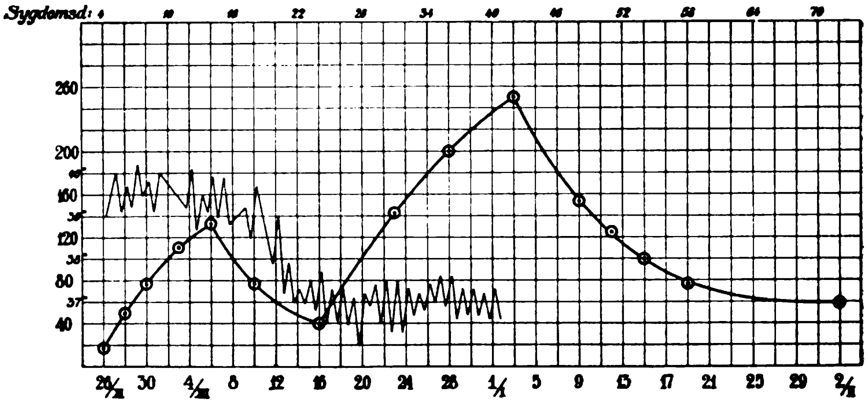


Fig. XIII.

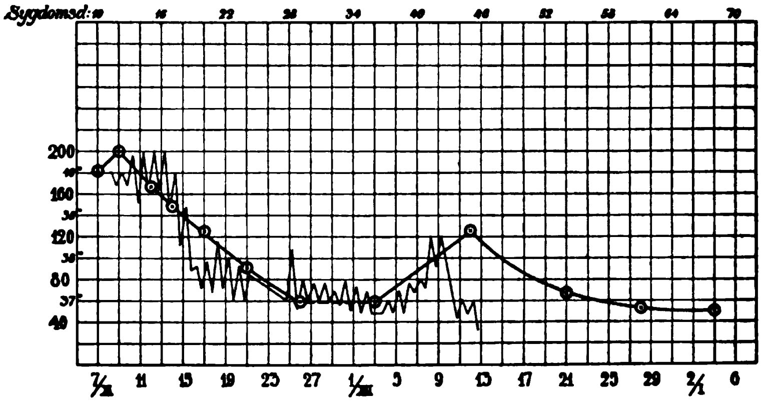


Fig. XIV.

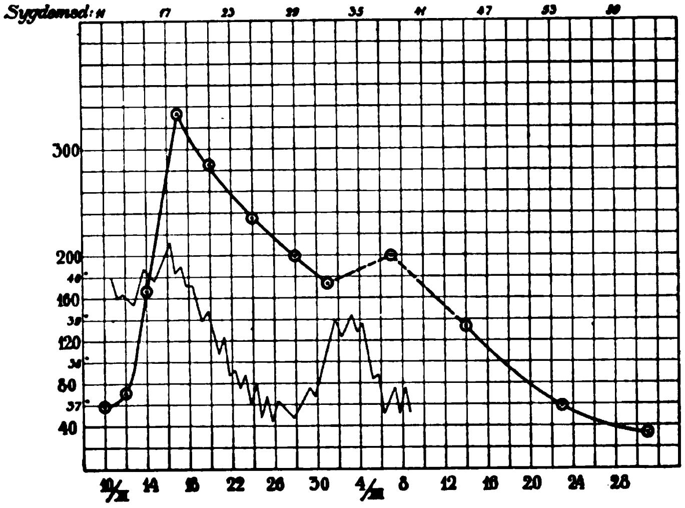


Fig. XV.

Leichtere und mittelschwere Fälle mit Komplikationen.

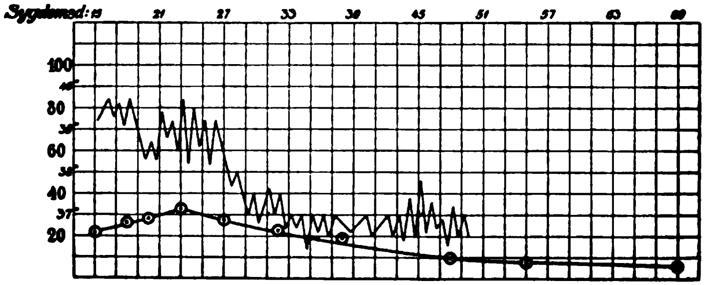


Fig. XVI.

XVI. **Niels**, P. A., 42 Jahre alt. Bl. Hosp. 9. Nov. 1901 bis 2. Jan. 1902. Nach einem Prodromalstat. v. 6 T. bettl. 8 T. v. Einbr. Stat. typh., zahlr. Roseola, Meteorismus, typische Stühle. Bei d. Einbr. zahlreiche Röchellaute in beiden Lungen, reichl. mucopur. Expekt., 24. Nov. afebril, 26. Nov. Wohlbef., die stethosk. Phänomene verschwinden, 16. Dez. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Bronchitis dupl.

XVII. **Anders** A., 25 Jahre alt. Bl. Hosp. 29. Nov. 1901 bis 26. Jan. 1902. 4 T. Prodromen, bettl. 10 T. v. Einbr. Stat. typh., Roseola, Meteorismus, Diarrhöe.

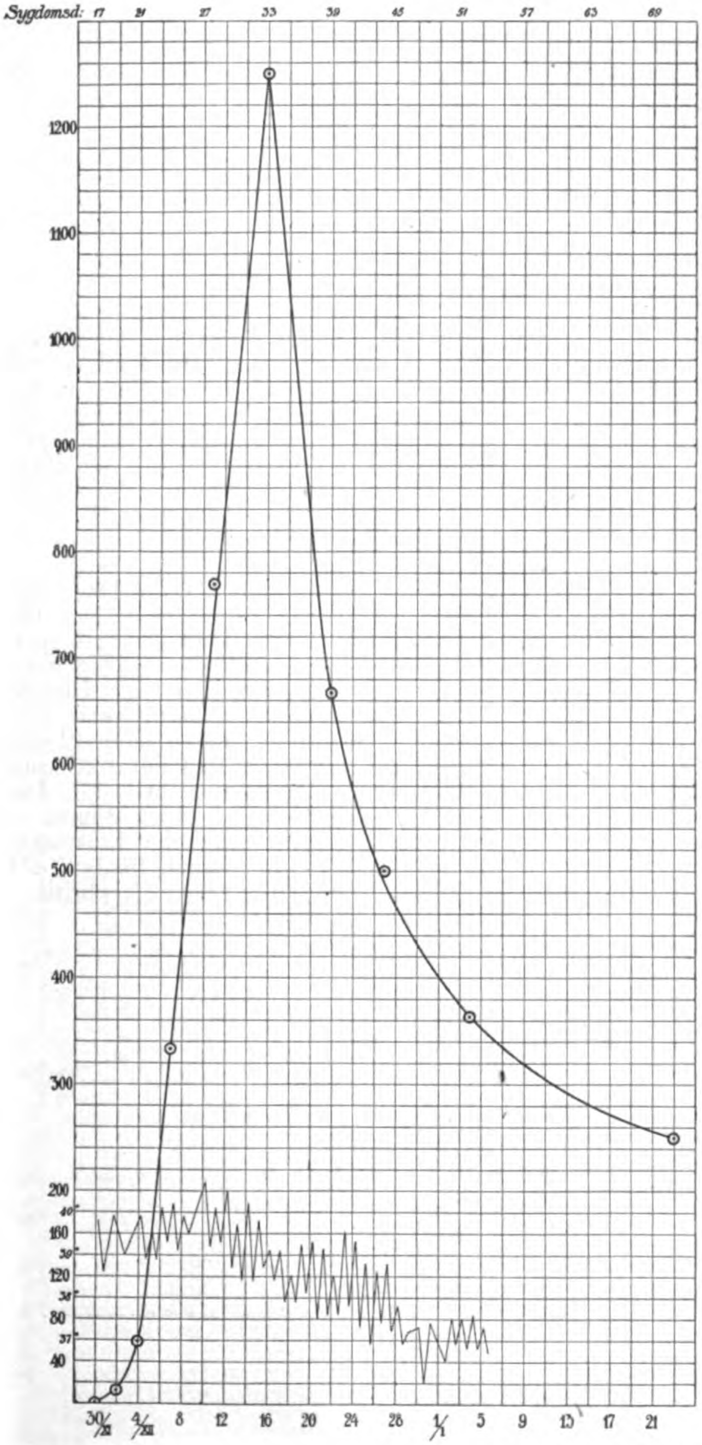


Fig. XVII.

Bei Einbr. eine Anzahl von Follikuliten an Brust u. Rücken, 23. Dez. kleine Furunkel an Nates u. Rücken, in den folg. Tagen entwickelt sich an r. Nates ein Absceß, der am 27. Dez. perforiert, 29. Dez. afebril, Wohlbef., 11. Jan. die Furunkulose gehoben, 11. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Furunculosis l. gr.

XVIII. Wiltje de Y., 38 Jahre alt. Bl. Hosp. 10. Dez. 1901 bis 29. Jan. 1902. Gibt den Anfang der Krankheit auf 3 Wochen v. Einbr. an. Stat. typh., Epistaxis, Roseola, Diarrhöe. Bei Einbr. erhält der Urin zahlr. körnige Cylinder und Spuren von Eiweiß. 14. Dez. Pustel- und Furunkeleruption an Nates, 24. Dez. afebril, 28. Dez. Urin ohne Cylinder, zeigt Spuren von Alb. und gibt schwache Blutreaktion, 11. Jan. Urin normal, 15. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Nephritis. Furunculosis l. gr.

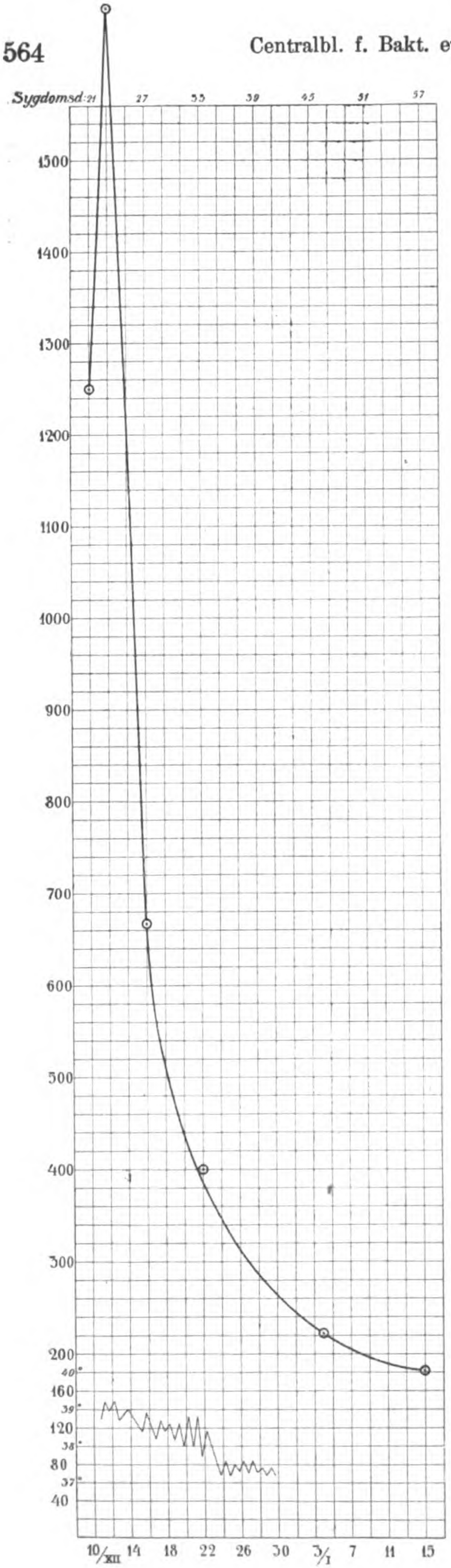


Fig. XVIII.

Schwere Fälle ohne Komplikationen.

XIX. Emma S., 30 Jahre alt. Bl. Hosp. 21. Dez. 1901 bis 16. März 1902. 10 T. v. Eintr. plötzl. krank, bettl. die ganze Zeit. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 10. Jan. afebril, Wohlbef., Stuhl nat., 28. Jan. wieder Diarrhöe, 31. Jan. Stat. typh., Eruption von Roseolen, 13. Febr. wieder Wohlbef., Stuhl nat., afebril, 2. März e. l. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv.

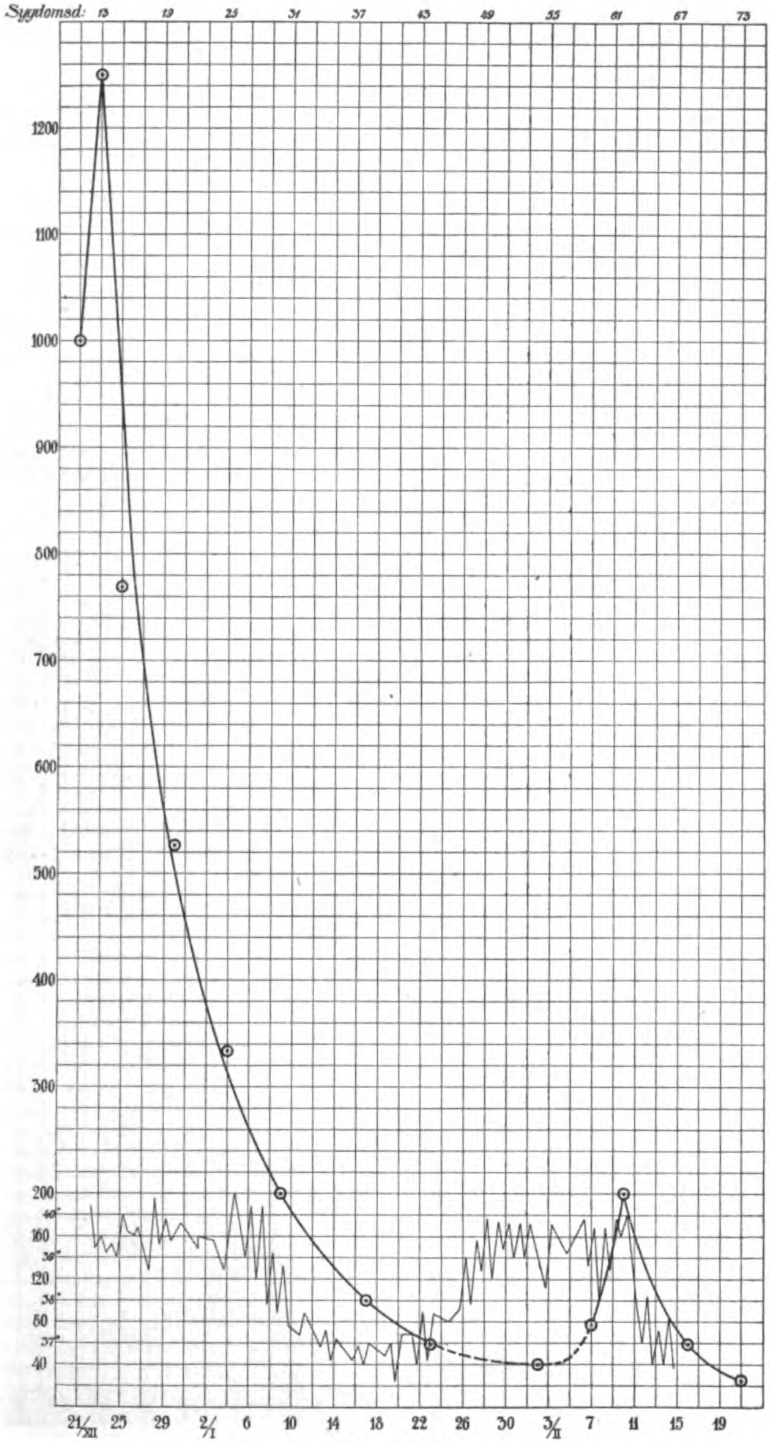


Fig. XIX.

XX. Jensine A. B., 23 Jahre alt. Bl. Hosp. 23. Nov. 1901 bis 16. Febr. 1902. **Krank** 14 T. v. Einbr., aber nur ab und zu bettl. Stat. typh., Epistaxis, Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 6. Dez. afebril, vollst. Wohlbef., 11. Dez. Kopfschmerz und Schm. im Unterleib, Diarrhöe, 14. Dez. frische Erupt. v. Roseolen, 24. Dez. wieder Wohlbef. und afebril, 19. Jan. e. l.. 11. Jan. Rezidiv der Sympt., 18. Jan. Wohlbef., 2. Febr. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv I und II.

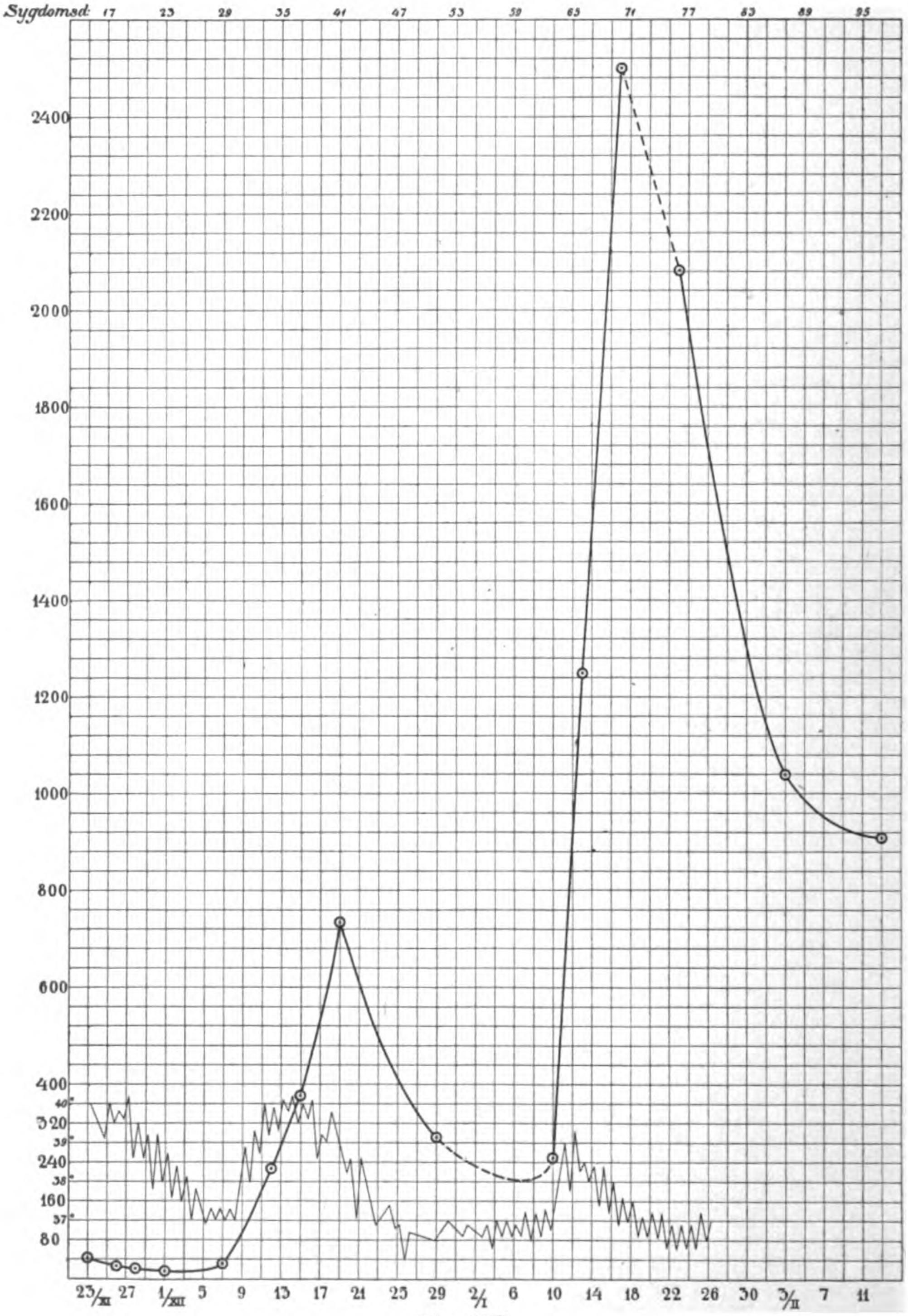


Fig. XX.

XXI. Henriette L., 24 Jahre alt. Bl. Hosp. 4. Nov., starb 10. Nov. 1901. Krank 8 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Diarrhöe. Partus 4 Wochen v. Einbr., e. l. 10. Tag. Puerp. norm. Bei Einbr. sehr erschöpft. **Sektionsdiagnose:** Ulcera typh. intestini ilei et coeci et coli. Hyperaemia et hyperplasia lienis. Hyperaemia et hyperplasia part. necrot. gll. mesent. Degenerat. parenchym. organor. Hypostasis et oedema pulm.

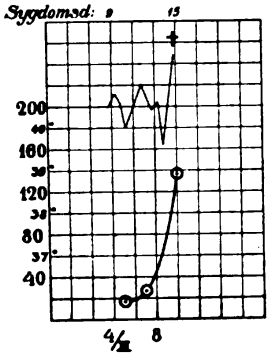


Fig. XXI.

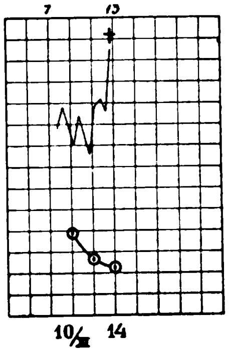


Fig. XXII.

XXII. Katty H., 20 Jahre alt. Bl. Hosp. 9. Nov., starb 14. Nov. 1901. Bettl. 7 T. v. Einbr. Stat. typh., Epistaxis, Milzschwellung, Diarrhöe. **Sektionsdiagnose:** Ulcera typh. intest. crassi et tenui. Hyperplasia gll. mesent. Hyperplasia et hyperaemia lienis. Degen. parenchym. organorum.

Schwere Fälle mit Komplikationen.

XXIII. Alfred H., 4 Jahre alt (Bruder des III.). Bl. Hosp. 30. Nov. 1901 bis 6. Febr. 1902. Kränkelte mehrere Tage (3—5), dann bettl. 6 T. v. Einbr. Stat. typh., zahlr. Roseola, typische Stühle. 4. Dez. sehr erschöpft, unruhig, Lippen und Zunge trocken, krustig, 8. Dez. Stühle teerfarbig, 10. Dez. die letzten 2 T. starkes Husten, in beiden Lungen zahlr. mittelf. u. feine feuchte Röchellaute, keine deutliche Dämpfung, 19. Dez. afebril, 22. Dez. erholt sich gut, stethosk. Phänomene verschw., 4. Jan. Wohlbef., 23. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Bronchitis dupl.

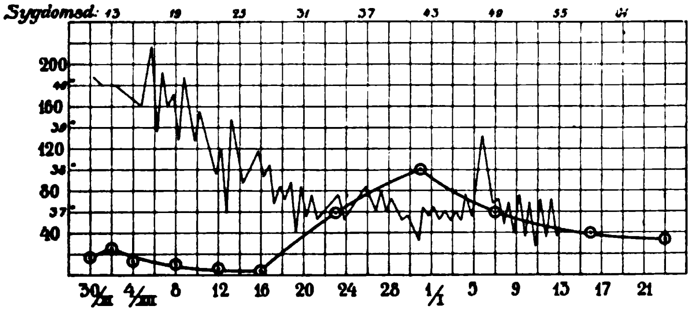


Fig. XXIII.

XXIV. Ane Marie L., 25 Jahre alt. Bl. Hosp. 18. Dez. 1901 bis 16. März 1902. 6 T. Prodromen, bettl. 3 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 26. Dez. sehr erschöpft und stumpf, Lippen und Zunge trocken, krustig und fissuriert, Albuminurie (1 mm, Heller), 31. Dez. Absceß am r. Femur (nach Injektion), 3. Jan. afebril, 12. Jan. Wohlbef., 15. Jan. Kopfschmerz, nichts Objektives, 24. Jan. wieder afebril, 12. Febr. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv, Albuminuria, Abscess. fem. d.

XXV. Signe D., 29 Jahre alt. K. G. S. 12. Nov. 1901 bis 4. Febr. 1902. Unwohl ca. 14 T. v. Einbr., aber nicht bettl. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe, 19. Nov. bef. sich wohl, 29. Nov. Kopfschmerz, wieder stumpf, 7. Dez. immer noch erschöpft, Uebelkeit, Zunge trocken, krustig, 22. Dez. bef. sich wieder wohl, ist afebril, 3. Jan. hustet in den letzten Tagen, klagt üb. Schm. in l. Brustseite und hier zwischen der Papille und vordersten Axillarlinie scharfe Reibungslaute, keine Däm-

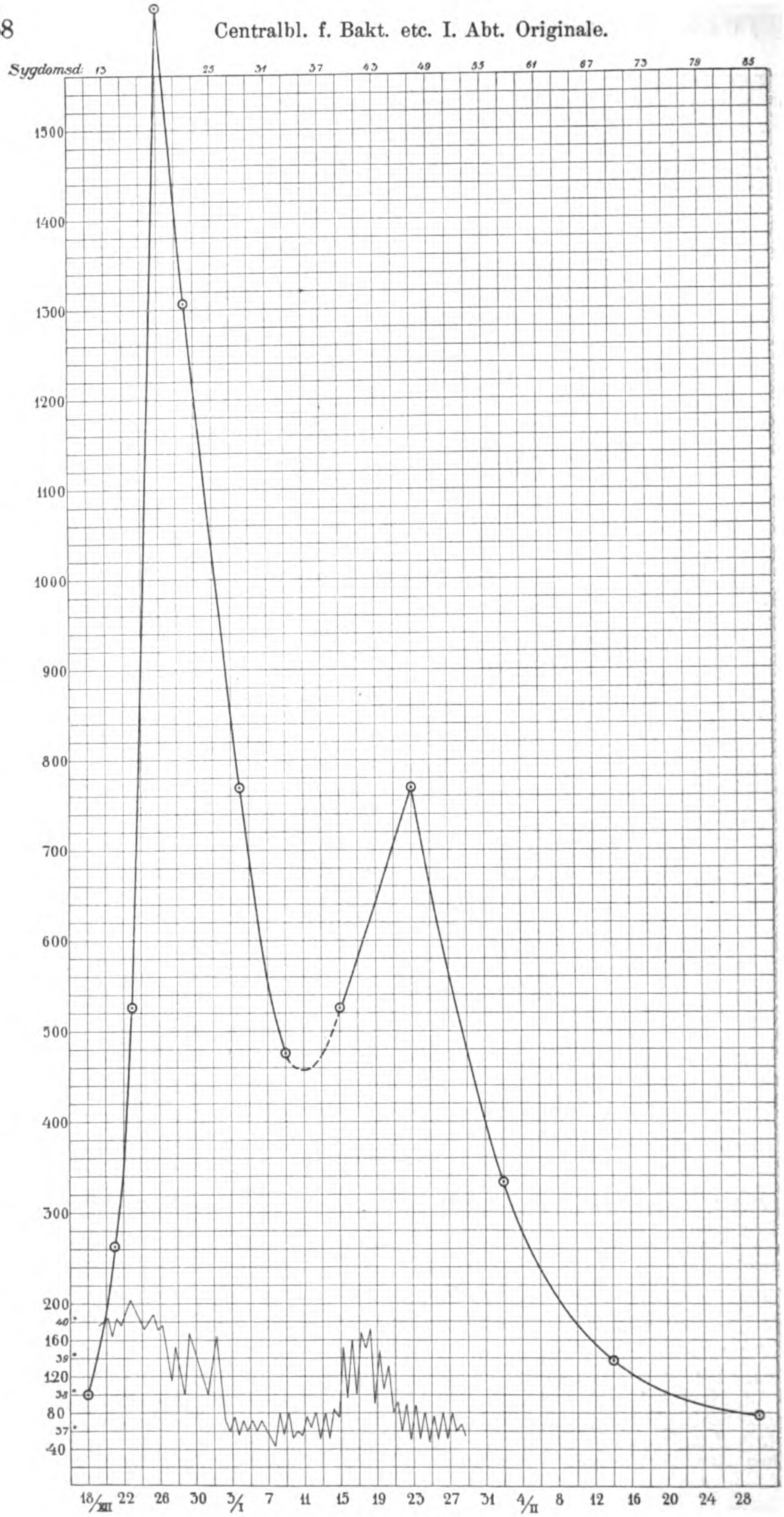

Sygdomsd: 13
25
31
37
43
49
55
61
67
73
79
85
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
40°
160
39°
120
38°
80
37°
40
18/XII
22
26
30
3/I
7
11
15
19
23
27
31
4/II
8
12
16
20
24
28

Fig. XXIV.

pfungen, 6. Jan. Wohlbef., Reibung verschwunden, e. l. Klin. Diagnose: F. t. Pleuritis sicca sin.

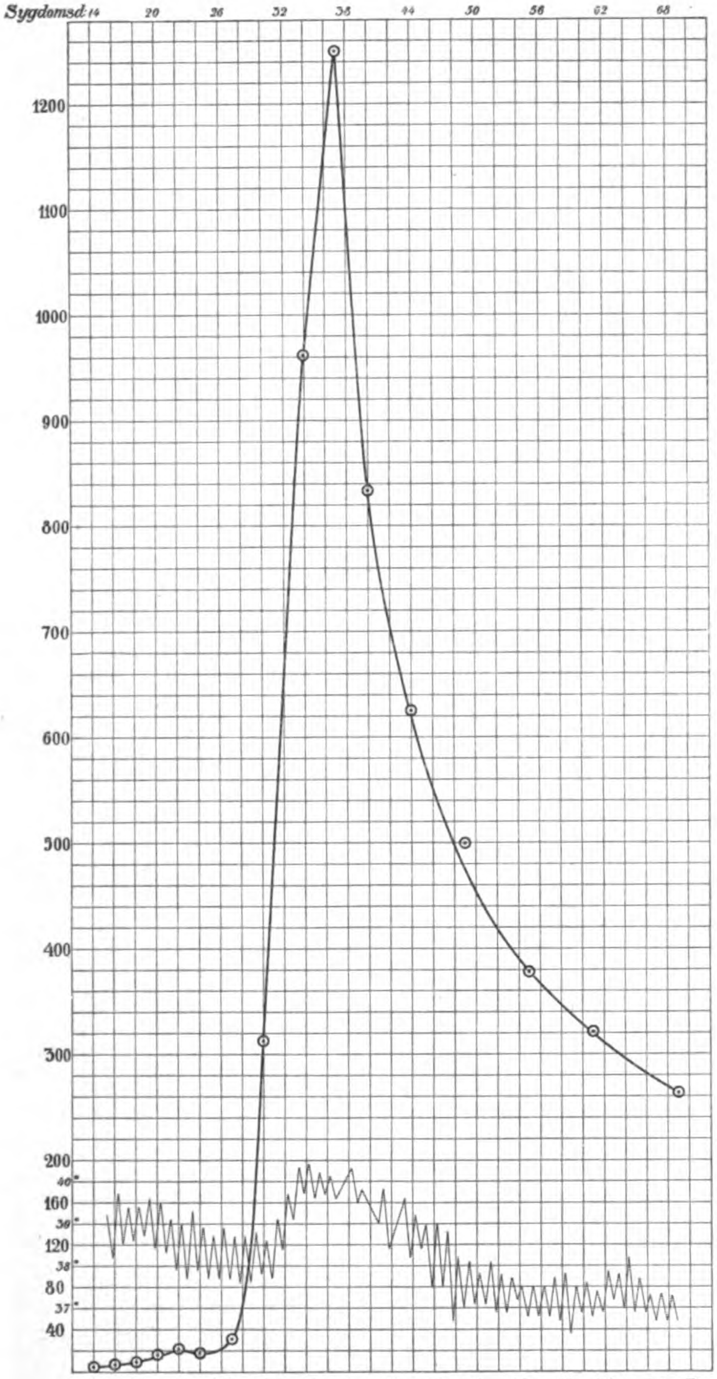


Fig. XXV.

XXVI. Dorothea P., 35 Jahre alt. Bl. Hosp. 18. Dez. 1901 bis 23. März 1902. 4—5 T. Prodromen, dann 4 T. v. Einbr. bettl. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 31. Dez. stark erschöpft, abwechselnd stumpf und unruhig, phantasiert, involontärer Abgang von Urin u. Faeces, Albuminurie, 19. Jan. Wohlbef., 1. Febr. Uebel-

keit und Schm. im Unterleib, 3. Febr. wieder stumpf und unklar, 9. Febr. stark delirierend, halluziniert, maniakalisch erregt, 14. Febr. wieder klar. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv, Albuminuria, Mb. mental acut. in rec.

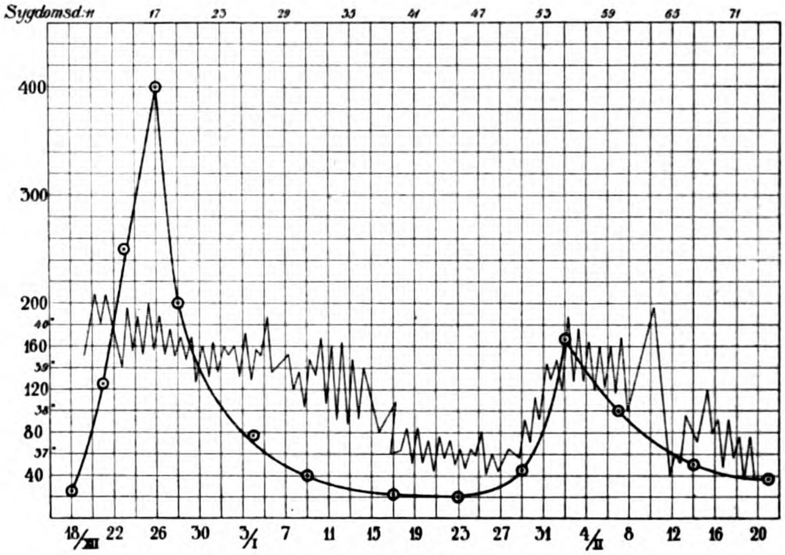


Fig. XXVI.

XXVII. **Laurits L.**, 25 Jahre alt (verheiratet mit XXI.). B. Hosp. 4. Nov. 1901 bis 28. Jan. 1902. Prodromen 10 T., bettl. 4 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe. 12. Nov. beständig sehr stumpf, involontärer Abgang v. Urin u. Faeces, 16. Nov. sehr erschöpft, Cyanose der Haut, Puls sehr klein, weich, 22. Nov. etwas besser, doch ab und zu unklar, 28. Nov. bef. sich nun ganz wohl, kleine Abscesse an Nates und im Nacken werden incidiert, 13. Dez. Kopfschmerz u. Schm. in l. Schulter u. Ellbogen, nichts Obj., 25. Dez. Wohlbef., 27. Dez. afebril, 14. Jan. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Rezidiv, Rheumatismus artic. l. gr.

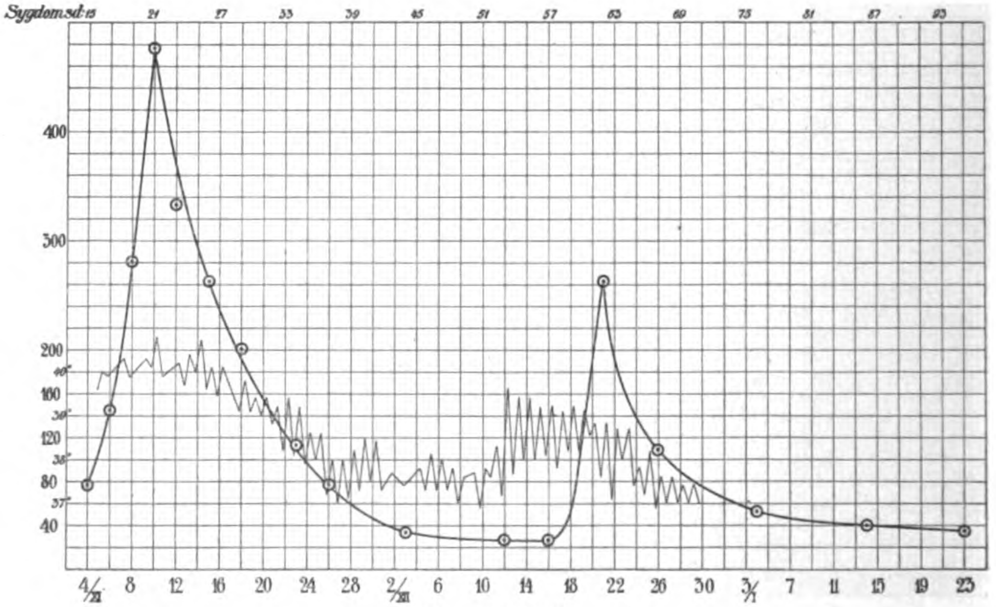


Fig. XXVII.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe des Blutfibrins

[Aus dem chem. Laborat. des Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Von **N. Sieber.**

Bei der Fortsetzung unserer Untersuchungen über Blutfibrine sowohl von normalen als auch gegen verschiedene Krankheiten immunisierten Tieren, speziell von Pferden, konnten wir uns bald überzeugen, daß wir es in diesem Falle mit einem zusammengesetzten Komplex oder einer Summe verschiedener, zum Teil fermentativer, zum Teil diesen sehr nahestehender Funktionen zu tun haben.

Bei dieser Sachlage kann man sich natürlich durchaus nicht mit Bestimmtheit darüber äußern, ob die verschiedenen Funktionen einem oder mehreren, vielleicht sogar vielen vorhandenen Agentien zukommen. In unserer Darlegung wollen wir aus dem Grunde nur die uns interessierenden Funktionen und Eigenschaften näher betrachten, die Frage aber, welcher Art von Substanzen diese oder jene Eigenschaften und Funktionen angehören, vorläufig ganz unberührt lassen.

In der vorliegenden Veröffentlichung haben wir vor, eine Reihe von Beobachtungen wiederzugeben, welche speziell die Frage von den bakterienfeindlichen Agentien des Fibrins betreffen; über die anderen aktiven Substanzen des Fibrins wollen wir an anderer Stelle berichten.

Die Frage von den Mitteln, über welche der Organismus zum Zwecke seines Selbstschutzes und der Bekämpfung verschiedener schädlicher Einwirkungen, vor allem den Infektionen überhaupt, verfügt, ist schon längst Gegenstand eines vielseitigen Studiums geworden. Es hat sich wohl schon gegenwärtig ein ziemlich reichhaltiges Material von Beobachtungen, Tatsachen und Theorieen, welche uns in gewissem Maße die in dieses Gebiet gehörigen Erscheinungen erklären, angesammelt. Wir beabsichtigen jedoch keine genauere Betrachtung in Betreff der in dieser Frage aufgestellten Theorieen und hierher gehörigen Tatsachen, welche bald die eine, bald die andere Art von Selbstschutz des tierischen Organismus gegen Infektion bestätigen, nämlich einerseits den Schutz durch Phagocytose, andererseits durch Vorgänge, welche zur Immunität führen, auch denjenigen durch gelöste Agentien, welche von verschiedenen Organzellen und in deren Umgebung, und zwar vor allem durch die Intercellularräume und die in ihnen zirkulierenden Säfte, die sich schließlich in Blut und Lymphe ergießen, ausgeschieden werden.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die dem tierischen Organismus zu Gebote stehenden Schutzmittel nicht sehr einfache, sondern vielmehr sehr verschiedenartige sind und daß sie außerdem augenscheinlich allen möglichen Zufälligkeiten angepaßt sein sollen. Wenn nämlich irgend eine Substanz oder irgend ein Mittel aus irgend welchem Grunde nicht im stande ist, die ihm eigene Funktion zu äußern, d. h. wenn sie inaktiv geworden sind, so treten wahrscheinlich anderweitige Prozesse an ihre Stelle. Indem wir im Laufe der letzten Jahre uns mit Untersuchungen über verschiedene Lösungen oder wässerigen Extrakte von Fibrin verschiedenen Ursprungs beschäftigten, stießen wir einerseits auf die Tatsache, daß die Fibrinextrakte beim Stehen und Aufbewahren sich nicht zersetzt haben und nicht faulten, was nicht für jedes Extrakt, sondern nur für unter Einhaltung gewisser Kautelen gewonnene zutrifft.

Da andererseits durch vorhergehende Untersuchungen festgestellt worden ist, daß das Fibrin Substanzen enthält, welche die Fähigkeit besitzen, auf Toxine zerstörend einzuwirken, so drängte sich in natürlicher Weise die Frage auf, wie sich dieselben Substanzen unmittelbar gegenüber Mikroorganismen, welche die einen oder die anderen Toxine aufweisen, verhalten.

Nachdem das Nichtverderben der Lösungen festgestellt worden war, was auf bakterienfeindliche Eigenschaften der entsprechenden Substanzen hinwies, mußte man zu ermitteln suchen, inwieweit sie einen spezifischen Charakter besitzen. In dieser Richtung vorgenommene Untersuchungen brachten uns zu der Ueberzeugung, daß wir es im gegebenen Falle (beim Fibrin) nicht nur mit spezifischen, ausschließlich auf die betreffende Infektion einwirkenden Agentien, sondern auch mit Agentien, die eine allgemeine schädliche Wirkung auf die Mikroben ausüben, zu tun haben. Es muß jedoch bemerkt werden, daß nicht alle Mikroben in gleichem Maße der schädlichen Einwirkung dieses Agens unterstehen, daß die weniger standfesten leichter vernichtet werden, die resistenteren aber schwerer. Die von den erwähnten Substanzen auf die Mikroben ausgeübte schädliche Wirkung äußerte sich in zweifacher Weise, nämlich: 1) durch Verminderung der Virulenz der betreffenden Mikroben, und 2) durch Schädigung ihrer Vermehrungsfähigkeit. Zur Ermittelung dieser beiden Wirkungen nahmen wir Untersuchungen sowohl in vitro als auch in vivo vor.

Unsere die quantitative Seite der im Fibrin enthaltenen bakterienfeindlichen Stoffe betreffenden Versuche haben ergeben, daß in dieser Beziehung ziemlich bedeutende Schwankungen bestehen. Bakterienfeindliche Wirkung besitzt sowohl das Fibrin normaler als auch dasjenige gegen verschiedene Krankheiten immunisierter Tiere. Die Frage über den quantitativen Gehalt an bakteriziden Substanzen kann nicht entschieden werden, solange es keine genaue Methode zur Ausscheidung dieser Substanzen gibt. Fürs erste kann nur behauptet werden, daß die einen Fibrinsorten mehr, die anderen weniger bakterizide Stoffe enthalten. Gegenwärtig beurteilen wir den quantitativen Gehalt nach der Anzahl der Extrakte des zu wiederholten Malen mit gleicher Menge Wassers dem Gewichte nach bearbeiteten Fibrins, in denen noch bakterizide Stoffe enthalten sein können. Wir verfügten über Fibrinsorten, welche nach 2maliger Extraktion erschöpft waren, und über andere, welche 4—5 und noch mehrere Male mit Wasser bearbeitet wurden, wobei sämtliche gewonnenen wässerigen Auszüge eine bestimmte Menge bakterizider Stoffe enthielten. Es sind von uns auch Fibrinsorten angetroffen worden, welche nach 2—3maliger Extraktion mit Wasser diesem letzteren die in ihnen enthaltenen bakterienfeindlichen Substanzen nicht vollständig abgeben. Andererseits wurde aus der Menge von Kubikcentimetern, welche nötig waren, um eine bestimmte Menge Kultur unschädlich zu machen, der Gehalt der bakterienfeindlichen Stoffe in den Extrakten selbst beurteilt.

Obgleich wir die Frage, welchen Substanzen die dem Fibrin eigenen Fähigkeiten angehören, nicht in Betracht ziehen wollen, so halten wir es doch, um Mißverständnissen vorzubeugen, für angebracht, zu äußern, daß wir es im Fibrin aller Wahrscheinlichkeit nach mit intracellulären

Substanzen, die teilweise zu den Fermenten, teilweise aber zu den diesen nahestehenden Substanzen gehören, zu tun haben.

Für die Annahme, daß die uns interessierenden Stoffe weder im freien noch im gelösten Zustande an das Fibrin fixiert sind, spricht eine ganze Reihe von Beobachtungen, die sowohl von anderen Autoren als auch von uns gemacht wurden und die erwähnten Substanzen entweder direkt oder indirekt berühren; hierüber soll übrigens noch weiter unten die Rede sein.

Die Methode, deren wir uns fürs erste bedient haben, um die im Fibrin enthaltenen bakterienfeindlichen Stoffe zu isolieren, besteht in den Hauptzügen in folgendem: Das aus Blutplasma oder direkt aus dem Blute gewonnene Fibrin wird vor allem so lange durch die Presse gedrückt, bis die letzten Spuren von Serum aus ihm entfernt sind. Sodann wird es 3—5mal mit kleinen Wassermengen, und zwar so lange gewaschen, bis das Wasser klar von ihm abläuft; hierauf wird es wiederum ausgepreßt, um die letzten Spuren von Wasser und auch Blutserum (sowie die diesem angehörigen Substanzen) zu beseitigen. Das ausgewaschene und ausgepreßte Fibrin wird sodann gewogen und mit einer dem Gewichte nach gleichen Menge chloroformhaltigen Wassers übergossen. Die Extraktion des Fibrins wurde jedesmal bei einer Temperatur von 22—25° vorgenommen und nicht weniger als 5—10 Tage, zuweilen aber auch länger, fortgesetzt, wobei die das Fibrin enthaltenden und mit Glasstopfen versehenen Flaschen von Zeit zu Zeit (2—3mal am Tage) geschüttelt wurden. Später verwandten wir zu diesem Zwecke einen speziellen Schüttelapparat. Die bei wiederholter Bearbeitung gewonnenen Fraktionen wässeriger Extrakte wurden nicht, wie das früher geschehen ist, zusammengegossen, sondern wurden jede für sich untersucht, um auf diese Weise die Frage der in Lösung übergehenden Substanzen beurteilen zu können. Hierbei muß bemerkt werden, daß die im Fibrin enthaltenen bakterienfeindlichen Stoffe sich nicht leicht in Wasser lösen, daß zuweilen ziemlich viel Zeit erforderlich ist, damit sie im Wasser sich auflösen; deshalb muß zur Extraktion stets Wasser verwandt werden, welches irgend eine desinfizierende Substanz enthält, die sodann nötigenfalls leicht entfernt werden kann. Zu diesem Zwecke verwandten wir meist Chloroform-Thymol. Die Gegenwart von antiseptischen Substanzen ist namentlich in den ersten Extraktionsperioden erforderlich, um die Lösungen vor Zersetzung zu schützen, denn um diese Zeit sind die bakterienfeindlichen Stoffe entweder gar nicht in ihnen enthalten oder in ungenügender Menge, welche die Entwickelung der Mikroben nicht zu hemmen im stande ist.

Die Versuche, welche bezweckten, die Frage zu lösen von dem Vorhandensein der bakterienfeindlichen Stoffe im Fibrin selbst oder in den in ihm vorhandenen morphologischen Elementen resp. speziell in den Substanzen, welche unter Einwirkung eines mehr oder minder langdauernden Kontaktes des Fibrins mit Wasser in Lösung übergehen, wurden, wie oben bereits erwähnt, teilweise in vivo an Tieren, teilweise aber in vitro vorgenommen. Die Versuchsanordnung war die in solchen Fällen übliche.

In einer ganzen Reihe von Versuchen, welche an verschiedenen Tieren (Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen) angestellt wurden, erwies sich, daß im Blutfibrin, welches sowohl von normalen wie auch von gegen verschiedene Krankheiten immunisierten Tieren gewonnen war, Stoffe enthalten sind, die im letzten Falle nicht nur eine spezifische, sondern auch eine allgemeine schädliche Wirkung auf verschiedenartige Mikroben auszuüben im stande sind. Es wurden in der Richtung sowohl weniger standfeste als auch resistentere Mikroben untersucht. Zur ersten Gruppe gehörten Kulturen des Choleravibrio, des Typhus- und des Diphtheriebacillus, sodann Streptokokken verschiedenen Ursprungs, schließlich Staphylokokken, Kulturen des Bacillus Friedländer, des Vibrio Metschnikowii, des B. pyocyaneus, Milzbrandbacillen mit Sporen, Osteomyelitis- und Tuberkelbacillen.

Zu den Versuchen dienten, mit Ausnahme der Tuberkelkulturen, meistens 24- oder 48-stündige Kulturen. Das Verhältnis zwischen Kulturen und auf bakterienfeindliche Fähigkeit zu untersuchender Lösung oder wässerigen Fibrinextrakten verhielt sich wie 1 : 1, 1 : 2 und 1 : 4. Die Menge der der Einwirkung von verschiedenen Lösungen oder Emulsionen ausgesetzten Kulturen entsprach in allen Fällen der mehrfachen tödlichen Dosis der verschiedenen Mikroben (für das betreffende Tier berechnet). Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß wir die mit verschiedenen wässerigen Auszügen vermengten Kulturen den Tieren entweder sofort einverleibt haben oder erst, nachdem die Gemenge mehrere Stunden, bis 24 und mehr, bei Zimmertemperatur (bei 16—18°) oder bei Brütschranktemperatur (37,5—38°) gestanden hatten. Alle hierher gehörigen Versuche überzeugten uns, daß die wenig resistenten Mikroben in kurzer Zeit rasch unschädlich gemacht werden durch die aus Fibrin erhaltenen Lösungen, während für die resistenteren eine bedeutend längere Einwirkungsdauer der bakterienfeindlichen Stoffe des Fibrins auf dieselben erforderlich ist. Parallel angestellte Versuche, in denen einerseits Tiere infiziert wurden, andererseits aber in vitro die Kulturen auf sterile Nährböden übergeimpft wurden, ergaben, daß so hochresistente Mikroben, wie sporenhaltige Milzbrandbacillen, Vibrio Metschnikowii, Friedländer-Pneumoniebacillen, Bac. pyocyan. und Osteomyelitis ein längeres Einwirkungsstadium brauchen, um in ihrer Vermehrungsfähigkeit beeinträchtigt zu werden. Gemenge von sporenhaltigen Milzbrandbacillen mit wässerigen Extrakten verschiedener Fibrinsorten, welche 24 und mehr Stunden im Brütschranke gestanden hatten, ergaben wohl bei Impfung auf Nährmedien reichliches Wachstum, enthielten also noch lebensfähige Bacillen oder Sporen, töteten aber bei Injektion der Tiere die letzteren nicht. Als höchst resistent gegen die uns interessierenden Stoffe erwies sich weiterhin das Osteomyelitis-Stäbchen sowie Friedländer-Bacillus, B. pyocyaneus und Vibrio Metschnikowii: Der Einwirkung wässeriger Extrakte verschiedener Fibrinsorten ausgesetzt, bleiben sie lebens- und fortpflanzungsfähig; nach protrahierter (bis zu mehreren Tagen dauernder) Einwirkung von Fibrinextrakten auf die Kulturen, welche Tieren einverleibt wurden, erwiesen sie sich aber als avirulent. Die im allgemeinen resistentesten Arten büßen erst nach langdauernder Einwirkung der bakterienfeindlichen Stoffe ihre Virulenz ein. Die Kulturen der resistenten Mikroben töteten, nachdem sie während 24 Stunden oder länger unter der Einwirkung der im Fibrin enthaltenen bakterienfeindlichen Stoffe sich befunden haben, die Tiere entweder gar nicht oder aber bedeutend später als die entsprechenden normalen Kulturen in Kontrollversuchen. Andererseits büßt eine ganze Reihe von Mikroben, zu denen der Vibrio cholerae asiat., der Bac. typhi abdomin., diphtheriae, Streptokokken verschiedenen Ursprungs sowie der zu den resistenten Arten zählenden Staphylococcus aureus gehören, unter Einwirkung der sowohl aus normalem Fibrin als aus Fibrin von gegen verschiedene Krankheiten immunisierten Tieren gewonnenen bakterienfeindlichen Substanzen nicht nur ihre Virulenz ein, sondern geht hierbei auch sehr rasch zu Grunde. Weiter konnte außerdem festgestellt werden, daß die gleichen Stoffe des Fibrins auch auf Mischkulturen ebenfalls entsprechend schädlich einwirken. So verliert z. B. eine Mischkultur des Diphtheriebacillus und des Staphylococcus aureus nach Einwirkung der bakterienfeindlichen Stoffe des Fibrins nicht nur ihre Virulenz und überhaupt die für die Tiere schädigende Wirkung, sondern auch die Fähigkeit, neue Generationen zu liefern. Schließlich konnte noch konstatiert werden, daß auch säurefeste Bakterien, zu denen die Tuberkelbacillen gehören, in dem Falle, wenn die im Verlaufe mehrerer Stunden mit den im Fibrin enthaltenen Agentien in Berührung kommen, ihre Virulenz einbüßen. Läßt man ein Gemisch von Tuberkelbacillenkultur und wässerigem Fibrinextrakt 20—24 Stunden im Brütschranke stehen, und injiziert man dasselbe sodann Tieren intraperitoneal, so kann man hiernach bei diesen im Verlaufe von 2—3 Monaten Beobachtungszeit durchaus keine Abnormitäten in ihrer Gesundheit beobachten. Wird jedoch eine Tuberkelbacillenkultur sofort nach Vermengung mit dem wässerigen Fibrinextrakt an Tiere verimpft, so gehen dieselben wohl zu Grunde, jedoch viel später als die entsprechenden Kontrolltiere.

Die Ergebnisse der Versuche, von denen hier die Rede ist, sind aus den Tabellen zu ersehen, in welchen einige von unseren Versuchen wiedergegeben sind.

Aus allen unseren Versuchen und auch aus denen, welche in die Tabelle aufgenommen worden sind, geht hervor, daß die in Fibrin oder in den mit vorhandenen morphotischen Elementen enthaltenen bakterienfeindlichen Stoffe nicht nur die Virulenz von verschiedenen pathogenen Mikroben beeinträchtigen und deren pathogene Wirkung paralysieren, sondern auch die Lebensfähigkeit einiger von ihnen beeinflussen. Weiter stellte sich heraus, daß für diese bakterienfeindlichen Stoffe zur Aeußerung der Wirkung ein gewisser Zeitraum erforderlich ist. Gemische dieser Stoffe mit Bakterien, namentlich mit resistenteren, können, wenn sie Tieren sofort nach ihrer Zubereitung injiziert werden, wohl zum Tode derselben führen, obgleich bedeutend später als bei Kontrolltieren. Bleiben dieselben Gemische bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten 24 und mehr Stunden stehen und werden sie erst dann den Tieren injiziert, so ertragen dieselben die Injektionen ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen.

Obgleich wir nicht beabsichtigen, hier die Frage von der chemischen Seite resp. von der Zusammensetzung der wässerigen Extrakte des Fibrins zu berühren, so glauben wir doch erwähnen zu müssen, daß die Reaktion der verschiedenen Fibrinextrakte in den meisten Fällen eine neutrale, nur selten eine schwach alkalische war. Das spezifische Gewicht der Auszüge schwankt zwischen 1005 und 1025, der Stickstoffgehalt zwischen 0,5 und 1,2 Proz.

Filtriert man die wässerigen Auszüge durch Chamberland-Pasteur-Kerzen F, so behalten die Filtrate die bakterienfeindlichen Eigenschaften jedoch nur zum Teil, d. h. in abgeschwächter Form.

Tabelle I.

Wirkung wässeriger Auszüge des normalen Fibrins auf verschiedene Mikroorganismen.

Mikrobenart	Tiergattung	Menge der Kultur in ccm	Menge des Fib.-Auszugs in ccm	Einwirkungszeit vor der Einspritzung in Stunden	Beobachtungszeit in Tagen	Zahl der in die Tabelle aufgenomm. Versuche	Thermostat	Gewichtszunahme der Tiere in g	Einverleibungsart	Leben	Tod
Cholera asiatica	Meerschweinchen	0,5—2	0,5—2	24—48	30—40	8	+	80—120	intraperitoneal	+	
		0,2—0,4; 3 Kontrolltiere im Laufe von 1—3 Tagen							„		+
Typhus abdominalis	Kaninchen	0,5—2	0,5—3	24—48	30—45	7	+	100—134	intravenös, intraperitoneal	+	
		0,2—0,4; 3 Kontrolltiere im Laufe von 4—10 Tagen							„ „		+
Diphtherie	Meerschweinchen	0,5—2	0,5—3	17—45	45—60	10	+	85—150	subkutan	+	
		0,006—0,05; 4 Kontrolltiere im Laufe von 1—4 Tagen							„		+
Streptococcus scarlatinae	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—45	5	+	100—150	intravenös	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Streptococcus periton.	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—42	5	+	90—160	„	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Staphylococcus aureus	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—48	16	+	95—175	intravenös, intraperitoneal	+	
		0,1—0,3; 5 Kontrolltiere im Laufe von 1—6 Tagen							„ „		+
Osteomyelitis	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	25—38	8	+	50—95	intravenös	+	
		0,2—0,5; 3 Kontrolltiere im Laufe von 1—3 Tagen							„		+
Milzbrand	Kaninchen, Mäuse	0,5—2	1,0—3	24—4×24	30—40	8	+	70—120	subkutan	+	
		0,1—0,3; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Vibrio Metschnikoff	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4×24	30—35	4	+	45—65	intraperitoneal	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
B. pyocyaneus	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4×24	30—48	6	+	35—70	„	+	
		0,2—0,4; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
B. pneum. Friedländer	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4×24	35—60	4	+	40—95	„	+	
		0,5—0,7; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Diphth. + Staph. aur.	Kaninchen, Meerschw.	0,5—2	1,0—3	24—48	25—70	10	+	100—210	subkutan	+	
		0,1—0,2; 4 Kontrolltiere im Laufe von 1—3 Tagen							„		+

Tabelle II.

Wirkung wässeriger Auszüge der Fibrine von gegen verschiedene Krankheiten immunisierten Pferden auf verschiedene Mikroorganismen.

Mikrobenart	Tiergattung	Menge der Kultur in ccm	Menge des Fib.-Auszugs in ccm	Einwirkungszeit vor der Einspritzung in Stunden	Beobachtungszeit in Tagen	Zahl der in die Tabelle aufgenomm. Versuche	Thermostat	Gewichtszunahme der Tiere in g	Einverleibungsart	Leben	Tod
Cholera asiatica	Meerschweinchen	0,5—2	0,5—2	24—48	25—45	8	+	90—122	intraperitoneal	+	
		0,2—0,4; 3 Kontrolltiere im Laufe von 1—4 Tagen							„		+
Typhus abdominalis	Kaninchen	0,5—2	0,5—2	24—48	30—52	7	+	100—134	intravenös, intraperitoneal	+	
		0,2—0,4; 3 Kontrolltiere im Laufe von 4—8 Tagen							„ „		+
Diphtherie	Meerschweinchen	0,5—2	0,5—3	17—45	30—60	10	+	85—150	subkutan	+	
		0,006—0,05; 4 Kontrolltiere im Laufe von 1—4 Tagen							„		+
Streptococcus scarlatinae	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—45	5	+	90—160	intravenös	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Streptococcus periton.	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—40	5	+	100—150	„	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Staphylococcus aureus	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	25—70	12	+	95—180	intravenös, intraperitoneal	+	
		0,1—0,3; 5 Kontrolltiere im Laufe von 1—4 Tagen							„ „		+
Osteomyelitis	Kaninchen	1,0—2	1,0—3	24—48	30—40	6	+	60—120	intravenös	+	
		0,4—0,7; 3 Kontrolltiere im Laufe von 1—3 Tagen							„		+
Milzbrand	Kaninchen, Mäuse	0,5—2	1,0—3	30—4 × 24	28—45	4	+	40—95	subkutan	+	
		0,1—0,3; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Vibrio Metschnikoff	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4 × 24	30—48	4	+	30—45	intraperitoneal	+	
		0,3—0,5; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
B. pyocyaneus	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4 × 24	30—45	4	+	35—60	„	+	
		0,2—0,4; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
B. Friedländer	Meerschweinchen	0,5—2	1,0—3	24—4 × 24	35—47	4	+	38—70	„	+	
		0,3—0,6; 2 Kontrolltiere im Laufe von 1—2 Tagen							„		+
Diphtherie + Staphyloc.	Kaninchen, Meerschw.	0,5—2	1,0—3	24—48	25—65	10	+	80—190	subkutan	+	
	0,1—0,2; 4 Kontrolltiere im Laufe von 1—3 Tagen								„		+

Tabelle III.
Wirkung des wässerigen Auszuges von normalem Pferdefibrin auf Tuberkelbacillen.

Tiergattung	Menge d. Kultur in ccm	Menge des Fib.-Auszuges in ccm	Einwirkungszeit vor der Einspritzung in Stunden	Im Thermostaten	Bei Zimmertemperatur	Beobachtungszeit nach der Einspritzung in Tagen	Gewicht d. Tiere in Gramm	Art der Einverleibung	Gewichtszunahme d. Tiere in Gramm	Leben	Tod
Meerschweinchen	0,5	0,5	3 × 24	+		42	360	intraperitoneal	153	+	
	0,5	1,0	3 × 24	+		42	335		134	+	
	0,5	1,5	24	+		58	349		134	+	
	0,5	2,0	24	+	—	46	387		138	+	
	1,0	1,0	2 × 24	+	—	46	321		120	+	
	1,0	2,0	2 × 24	+	—	53	300		168	+	
	1,0	3,0	24	+	—	53	368		151	+	
	0,5	1,0	2 × 24		+	32	333		—		+

Tabelle IV.
Wirkung wässeriger Auszüge des Fibrins von gegen verschiedene Krankheiten immunisierten Pferden auf Tuberkelbacillen.

Tiergattung	Menge d. Kultur in ccm	Menge des Fib.-Auszuges in ccm	Einwirkungszeit vor der Einspritzung in Stunden	Im Thermostaten	Bei Zimmertemperatur	Beobachtungszeit nach der Einspritzung in Tagen	Gewicht d. Tiere in Gramm	Art der Einverleibung	Gewichtszunahme d. Tiere in Gramm	Leben	Tod
Meerschweinchen	0,2	0,2	15	+		48	335	intraperitoneal	130	+	
	0,2	0,5	17	+		80	312		175	+	
	0,3	0,3	15	—	+	50	280				+
	0,3	0,6	18	+		60	320		160	+	
	0,4	0,4	15	+		85	360		130	+	
	0,4	0,8	27	—	+	58	383				+
	0,5	0,5	24	+		50	359		128	+	
	0,5	1,0	48	+		62	372		148	+	
	0,5	1,5	48	—	+	80	392				+
	0,5	2,0	24	+		95	345		140	+	
	0,5	2,5	48	+		70	345		170	+	
	0,5	3.0	24	—	+	90	360				+
	0,5	6,0	24	+		75	390		200	+	
	1,0	1,0	48	+		80	345		115	+	
	1,0	2,0	48	+		90	348		168	+	
	2,0	2,0	48	+		98	370		150	+	
	2,0	4,0	35	+		60	365		93	+	

Die 5 dazu gehörenden, mit Tuberkelkultur geimpften Kontrolltiere sind alle nach vorheriger starker Abmagerung mit entsprechenden typischen, pathologisch-anatomischen Veränderungen zwischen 4. und 6. Woche gestorben.

Aus den früheren Untersuchungen wußten wir, daß das Durchleiten die CO_2-Bildung des Niederschlages hervorruft, jedoch nur in dem Falle, wenn die Konzentration der Lösung eine nicht zu hohe war, im entgegengesetzten Falle muß man die Lösung mehr oder weniger mit Wasser verdünnen, um Niederschlagsbildung zu erzielen; entsprechende Untersuchungen wiesen zudem nach, daß sowohl der nach CO_2-Einwirkung sich bildende Niederschlag als auch die von demselben abfiltrierte Lösung bakterienfeindliche Fähigkeit besitzt. Es muß jedoch bemerkt werden, daß in einigen Fällen das Filtrat aktiver war als der

Niederschlag; jedenfalls aber wiesen die nach CO_2-Einwirkung sich bildenden Niederschläge stets bakterienschädliche Eigenschaften auf, welche zudem lange Zeit ohne merkliche Veränderung und Abschwächung aufbewahrt sein können.

Wir konnten uns zu wiederholten Malen überzeugen, daß bei nacheinanderfolgender Bearbeitung des Fibrins mit Wasser letzteres mit jedem Male immer größere Quantitäten der in Fibrin enthaltenen bakteriziden Stoffe auflöst. Durch Versuche konnte nachgewiesen werden, daß 2-tägige Fibrinauszüge schwächer wirken als 5- und 10-tägige. Weiter ergab sich aus den entsprechenden Versuchen, daß die ersten Extrakte weniger bakterizide Stoffe enthalten als die darauffolgenden.

Zum Beweise hierfür wollen wir einen Versuch mit dem Staphylococcus flavus und 5 successiven wässerigen Extrakten des Fibrins von Pferden, welche gegen Diphtherie immunisiert worden waren, wiedergeben. 5 am 8. September 1904 angefertigte Gemische, von denen ein jedes aus einem der 5 wässerigen Extrakte und dem gleichen Volumen einer Kultur des Staphylococcus aureus bestand, blieben vor der Injektion 48 Stunden lang im Brütschrank stehen. Von jedem dieser Gemische wurden je 5 ccm 2 Kaninchen intraperitoneal einverleibt, also einem jeden Tiere 2,5 ccm der 24-stündigen Kultur, von der die tödliche Dose = 0,1 bis 0,2 ccm war, injiziert. Zu dem Versuche wurden im ganzen 12 Tiere verwandt; von diesen dienten 2 zur Kontrolle; ihnen wurden je 0,1 ccm der Kultur (Staphylococcus aureus) injiziert und beide gingen im Laufe von 2 Tagen ein. Die 2 Kaninchen, denen 5 ccm eines Gemisches des ersten wässerigen Auszuges und des Staphylococcus aureus injiziert worden waren, begannen nach der Infektion rasch an Gewicht abzunehmen; das eine von ihnen ging nach 2 Wochen, das andere zwischen der 2. und 3. Woche ein. Die beiden Kaninchen, welchen ein Gemisch des Staphylococcus mit dem zweiten wässerigen Fibrinextrakte einverleibt worden war, verloren im Laufe der ersten Tage auch etwas an Gewicht, dann aber erholten sie sich, nahmen von der 2. Woche an an Gewicht zu und leben bis jetzt. Die Kaniuinchen, denen je 5 ccm eines Gemisches desselben Staphylococcus, sowie des dritten und vierten wässerigen Auszuges intraperitoneal einverleibt worden waren, blieben vollauf gesund und nahmen normalerweise an Gewicht zu. Die 2 mit einem Gemische des fünften Extraktes und des Staphylococcus infizierten Kaninchen gingen zu Grunde, und zwar das eine nach 3 Wochen, das andere im Laufe der 4. Woche.

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen führten die Versuche mit Gemischen verschiedener Fibrinsorten aus anderen Extrakten und sowohl dem Staphylococcus aureus als auch sonstigen Mikrobenarten, wie z. B. dem Streptococcus, Vibrio cholerae asiat., dem Diphtheriebacillus u. a. m. Interessant und lehrreich sind die Versuche mit Diphtheriekulturen und Extrakten, welche durch successive Bearbeitung des Fibrins von gegen Diphtherie immunisierten Pferden gewonnen worden waren, denn aus diesen Versuchen ging hervor, daß die uns interessierenden bakterienfeindlichen Stoffe des Fibrins mit den im Blutserum immunisierter Tiere enthaltenen spezifischen Antitoxinen nicht identisch zu sein scheinen. Die bakterienfeindlichen Stoffe des Fibrins sind vor allem nicht spezifisch, denn sie können die Virulenz der verschiedensten Mikroben abschwächen; sie scheinen die Immunität gegen verschiedene und speziell gegen Diphtherieerkrankung nicht zu erhöhen.

Nuttall[1]) hat im Laboratorium von Flügge durch Versuche nachgewiesen, daß verschiedene Flüssigkeiten des tierischen Organismus, wie z. B. defibriniertes Blut, Pleuraexsudat, Humor aquaeus und andere, die Fähigkeit besitzen, auf Mikroben schädlich einzuwirken. Seine Untersuchungen stellte er an dem Milzbrand- und Heubacillus, sowie am Staphylococcus aureus an.

Noch vor Nuttall konnte Grohmann[2]) im Laboratorium von Alex. Schmidt, indem er die Einwirkung von Mikroben auf die Koagulation von abgekühltem Blutplasma untersuchte, konstatieren, daß auch eine umgekehrte Wirkung stattfindet, d. h. daß der Prozeß der Koagulation vom Blute resp. Plasma seinerseits auf die Bakterien schwächend einwirkt, d. h. daß er das Bakterienwachstum hemmt.

Eine ganze Reihe von Forschern, wie z. B. Hankin[3]), Fodor[4]), Niessen und Behring[5]), Wissokowitsch[6]), Denys[7]), vor allem H. Buchner[8]) mit seinen Schülern (M. Hahn u. a.), nahmen sodann eine allseitige Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften des Blutserums vor. Buchner benannte, wie bekannt, die im Serum enthaltenen bakteriziden Stoffe Alexine (*ἀλέξειν* — abwehren).

Die Untersuchungen von Niessen und Behring ergaben, daß verschiedene Tiere verschiedene spezifische Stoffe, welche auf verschiedene Mikrobenarten einwirken, aufweisen. Es konnte auch festgestellt werden, daß die bakterizide Wirkung zum Teil mit der Leukocytose und Phagocytose Hand in Hand geht.

Der Wettstreit zwischen den Forschern, welche in Betreff der Frage von den Mitteln, deren sich der tierische Organismus zu seinem Selbstschutze bedient, verschiedene Standpunkte vertreten, ist noch nicht abgeschlossen. Die Differenzen in den Anschauungen der verschiedenen Forscher sind gegenwärtig nur unwesentliche. Die Phagocytentheorie Metschnikoffs und seiner Schule, welche fast alle Erscheinungen des sich zwischen Organismus und Infektionsstoff abspielenden Kampfes umfaßt, wird von allen anerkannt. Buchner, Hahn, Pfeiffer und viele andere sprechen der Phagocytose wohl ihre Bedeutung nicht ab, meinen jedoch, daß der gegen die Mikroben geführte Kampf unter gewissen Bedingungen auch auf Kosten der im Blute und im Blutserum enthaltenen löslichen Stoffe stattfinden kann. Die Frage von der Abstammung der löslichen Stoffe, sowie auch die Frage, ob die in verschiedenen Fällen gewonnenen Stoffe gleichartig resp. identisch sind, harren noch ihrer Entscheidung. Zahlreiche Forscher nehmen an, daß die Alexine den Leukocyten, und zwar bestimmten Arten derselben, ihre Entstehung verdanken; bekanntlich gelten die Mikrophagen oder polynukleären Leukocyten resp. Myeloblasten als Vorkämpfer gegen die Mikroben. Hankin (l. c.) kommt bei seinen Untersuchungen über die Entstehung und den Gehalt der Alexine im Organismus zu dem Schlusse, daß die Alexine den eosinophilen Körnelungen, welche unter Einwirkung verschiedener Insulte von den sie enthaltenden zelligen Elementen aus-

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI.
2) Diss. Dorpat, 1884.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. p. 777 u. 809.
4) Deutsche med. Wochenschr. 1877. No. 39.
5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. p. 412.
6) Zeitschr. f. Hyg. Bd. X.
7) Archiv f. Hyg. 1890. Heft 1—2.
8) Centralbl. f. Bakt. etc. 1889. No. 21, 25, 26.

geschieden werden, ihre Entstehung verdanken. Andere Forscher jedoch, wie z. B. Moxter[1]), Schattenfroh[2]), Gruber[3]) u. a., nehmen an, daß die im Blutserum enthaltenen Alexine sich von den bakteriziden Stoffen der Leukocyten unterscheiden. Die Frage, ob die entsprechenden zelligen Elemente in lebendem Zustande, d. h. unter Einwirkung verschiedener Insulte, befähigt sind, bakterizide Stoffe auszuscheiden, steht noch offen. Einige Forscher vertreten den Standpunkt, daß nur nach Absterben der Leukocyten die in ihnen enthaltenen Agentien in Lösung übergehen.

Eine Reihe von den Chemotropismus betreffenden Beobachtungen läßt jedoch voraussetzen, daß verschiedene physikalische und chemische Reize Veränderungen des Volumens, sowie auch des Bestandes der Zellen bedingen können. Durch Anwendung physikalisch-chemischer Methoden konnte nachgewiesen werden, daß die Aeußerung der vitalen Zellenfunktionen verschiedenen physikalisch-chemischen Gesetzen, wie z. B. den Gesetzen des osmotischen Druckes, der Dissociation und Konzentration der Lösungen u. s. w., sich unterstellen. Die in dieser Richtung von Hamburger[4]), Limbek[5]), Gürber[6]) u. a. vorgenommenen Untersuchungen weisen darauf hin, daß unter Einwirkung des osmotischen Druckes und der Temperatur nicht nur das Volumen der roten und weißen Blutzellen, sondern auch ihr chemischer Bestand und derjenige der sie umgebenden Flüssigkeit variiert.

Den Gaswechsel betreffende Untersuchungen beweisen, daß unter CO_2-Einwirkung nicht nur der respiratorische Gaswechsel stattfindet, sondern daß sich hierbei sowohl die Zellen selbst als auch das sie umgebende Blutserum chemisch verändern. Hierbei findet z. B. eine Veränderung in der Verteilung der festen Bestandteile zwischen zelligen Elementen und Flüssigkeit statt.

Das Volumen der roten und weißen Blutkörperchen nimmt auf Kosten des durch ihre Membran diffundierenden Wassers zu, infolgedessen quellen sie auf und ihr chemischer Bestand verändert sich hierbei. Beides kann sowohl durch Bestimmung des spezifischen Gewichtes als auch durch chemische Untersuchung des Bestandes an verschiedenen Elementen vor und nach CO_2-Einwirkung mit Leichtigkeit nachgewiesen werden.

Bei Untersuchungen, welche den Gehalt an organischen Stoffen, Fett, Zucker u. a. m., sowie an anorganischen Bestandteilen, wie Chlor und derart mehr, betreffen und welche sowohl vor als auch nach Einwirkung der Kohlensäure auf Exsudate, eventuell Blut vorgenommen wurden, konnten die erwähnten Autoren z. B. feststellen, daß der Prozent-Chlorgehalt im Serum bis auf 8,6 Proz. abnimmt, des festen Rückstandes von 0,746 Proz. auf 100 ccm resp. der Fett- und Zuckergehalt speziell dagegen zunimmt. In diesen Untersuchungen sind besonders die Beobachtungen hervorzuheben, welche die Möglichkeit beweisen, die erwähnten Prozesse in entgegengesetzter Richtung ablaufen zu lassen, d. h. daß sie reversibel sind. Entfernt man die CO_2 durch Luftstrom, so kehrt die chemische Zusammensetzung, d. h. die Verteilung der

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1899. p. 687.
2) Ibid.
3) Münch. med. Wochenschr. 1901.
4) Zeitschr. f. Biologie. 1897. p. 252.
5) Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 1894. p. 309.
6) Sitzungsber. d. med.-physik. Ges. zu Würzburg. 1895.

einzelnen Bestandteile zwischen zelligen Elementen und Flüssigkeit, zur Norm zurück. Vermindert sich nach Austritt des Wassers das Volumen der zelligen Elemente, so fällt einerseits das spezifische Gewicht der Flüssigkeit trotzdem mit dem des Wassers zusammen, da infolge Aenderung des osmotischen Druckes und der Dissociationsverhältnisse sowohl zusammengesetzte als auch einfache, positive, sowie negative Ionen aus den Zellen in die umgebende Flüssigkeit austreten. Hamburger wies nach, daß bei CO_2-Einwirkung die Alkaleszenz des zellige Elemente enthaltenden Exsudates, was auch von Zuntz[1]) noch im Jahre 1867 ebenfalls beobachtet war, sowie dessen bakterizide Kraft ansteigt. Die Erhöhung der Alkaleszenz der Flüssigkeit wird durch die Bildung kohlensaurer Alkalien infolge Zersetzung des schwer diffundierenden alkalischen Albuminates, welches zum größten Teile in den Erythrocyten, zum geringeren Teile im Serum selbst enthalten ist, nach der Meinung der erwähnten Autoren bedingt.

Eine andere Ursache der Alkaleszenzerhöhung des Exsudates unter Einwirkung von Kohlensäure liegt in der Eindickung des Serums infolge von Quellung der roten resp. der weißen Blutzellen, als deren Folge die erhöhte Konzentration der leicht diffundierenden phosphor- und kohlensauren Salze resultiert. Die Frage jedoch, ob die Erhöhung der bakteriziden Kraft des Exsudates nach CO_2-Einwirkung ausschließlich von dem Anwachsen seiner Alkaleszenz abhängt oder ob in diesem Falle auch Erscheinungen anderer Art eine Rolle spielen, bleibt noch zu erörtern.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Beobachtungen, von denen eben die Rede war und welche auf Anwendung exakter Untersuchungsmethoden beruhen, uns gestatten, in das Wesen der intracellulären Prozesse tiefer hineinzublicken, und die Gesetze, nach denen sie sich richten, genauer kennen zu lernen. Schon aus dem Wenigen, was wir in betreff der Abhängigkeit der vitalen Prozesse von physikalisch-chemischen Gesetzen und im speziellen von dem Gesetze des osmotischen Druckes wissen, müssen wir schließen, daß der zellige Inhalt Veränderungen erfahren kann, wobei verschiedene anorganische und organische Stoffe in die umgebende Flüssigkeit ausgeschieden werden. Unserer Meinung nach ist der Streit, ob der zellige Inhalt zu Lebzeiten der Zelle aus ihr in die sie umspülende Flüssigkeit resp. Serum ausgeschieden werden kann oder ob hierzu der Zerfall der Zelle notwendig ist, gegenwärtig infolge der kurz vorher angeführten Beobachtungen durchaus nicht begründet. — Andererseits muß hervorgehoben werden, was wir vorher erwähnt haben, daß einige Autoren den Standpunkt vertreten, daß die in Leukocyten und im Serum enthaltenen bakteriziden Stoffe nicht identisch sind. Die Unterschiede zwischen beiden bestehen nach Schattenfroh[2]) in folgendem:

1) Die bakteriziden Stoffe der Leukocyten sind gegen hohe Temperaturen resistenter als die Alexine, welche bekanntlich schon bei 55—60° zerstört werden (für erstere tritt dieses erst bei 80—85° ein).

2) Beide Stoffe verhalten sich Salzen gegenüber verschieden. Der Umstand, ob Salze zugegen sind oder nicht, ist für die Aeußerung der

---

[1]) Inaug.-Diss. Bonn, 1867.

[2]) l. c.

den Leukocyten zukommenden bakteriziden Eigenschaften nicht von Belang, was von den Alexinen nicht behauptet werden kann.

3) Die Alexine wirken sowohl bakterizid als auch globulizid, d. h. sie wirken nicht nur auf Bakterien, sondern auch auf Erythrocyten ein. Die bakteriziden Stoffe der Leukocyten besitzen nicht die Fähigkeit, rote Blutkörperchen zu beinflussen.

Weitere diesbezügliche Untersuchungen müssen entscheiden, wie weit die erwähnten Differenzen zwischen den bakteriziden Stoffen des Serums und den polynukleären Leukocyten konstante sind und ob sie nicht von irgendwelchen nebensächlichen Ursachen und Bedingungen abhängen. Fürs erste konnte noch nicht nachgewiesen werden, daß die bakteriziden Stoffe des Fibrins in den drei oben aufgezählten Punkten sich gleich denjenigen der Leukocyten verhalten. Das weitere Studium der Frage muß ergeben, ob wir es hier mit der Wirkung eines Agens oder mit einer Kombination mehrerer Agentien zu tun haben, ähnlich wie das für die Erscheinungen der Immunität zu konstatieren ist, in denen bekanntlich die Wechselwirkung oder kombinierte Wirkung zweier Agentien, des thermostabilen Antikörpers resp. Immun- oder Zwischenkörpers (auch Phylocytase genannt) und des thermolabilen Komplements oder Alexins, erforderlich ist.

Es interessierte uns, zu entscheiden, ob im Fibrin beide Agentien enthalten sind, und gleichfalls auch, ob die bakteriziden Stoffe befähigt sind, Endotoxine zu paralysieren oder sie in einen untätigen Zustand zu versetzen. Beide Serien der diesbezüglichen Versuche sind noch nicht abgeschlossen, so daß wir in vorliegender Veröffentlichung von der Besprechung dieser Fragen, sowie von einer Besprechung der von anderen Autoren auf diesem Gebiete gemachten Beobachtungen auch absehen.

Schon zu Anfang vorliegender Veröffentlichung haben wir erwähnt, daß wir bei dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens uns nicht bestimmt äußern können, welchem im Fibrin enthaltenen Elemente die uns beschäftigende bakterienschädigende Fähigkeit angehört. Von zahlreichen uns zu Gebote stehenden Tatsachen, welche von vielen Forschern und auch von uns festgestellt worden sind, ausgehend, glauben wir mit Vorbehalt sagen zu können, daß diese Stoffe zu den intracellulären Bestandteilen gehören, welche unter gewissen Bedingungen, d. h. unter dem Einfluß physikalisch-chemischer sowie biologischer Agentien, in Lösung übergehen und, wenn sie aus der Lösung ausgeschieden werden, eine Zeitlang, ohne ihre Wirkungskraft zu verlieren, existieren können. Wir können uns jedoch nicht bestimmt aussprechen, welcher löslichen Substanz diese bakterienfeindliche Wirkung angehört. Wir wissen, daß der wässerige Fibrinauszug verschiedenartige Agentien und Stoffe enthält. Vor allem besitzen diese Auszüge Fermentwirkungen. Es können mittels verschiedener Reaktionen der Gegenwart oxydierende und reduzierende Agentien und Stoffe, sowie solche, die katalytische und andere Wirkungen besitzen, nachgewiesen werden. Ob diese Wirkung irgend einem der eben erwähnten Agentien resp. Stoffe zukommt oder ob es sich hier um Substanzen handelt, welche neben dem bakterienfeindlichen Stoffe anwesend sind — alles dies sind Fragen, welche erst durch weitere Forschungen gelöst werden müssen. Wir sind gegenwärtig beschäftigt, Mittel zu suchen, um die bakterienfeindlichen Stoffe von den neben ihnen enthaltenen Substanzen zu isolieren, um ihre Natur und chemische Zusammensetzung feststellen zu können. Deshalb sehen wir in der vorliegenden Veröffentlichung von einer Anführung unserer diesbezüglichen chemischen Untersuchungen ab und behalten uns dieselbe für später vor. Ebenso wollen wir hier auch die praktische Frage, ob die im tierischen Organismus enthaltenen Substanzen nicht zu Heilzwecken verwandt werden können, nicht berühren.

Nachdruck verboten.

Ueber die aktive Immunisierung des Menschen gegen Cholera vermittelst autolytischer Produkte des choleragenen Vibrio und über das Wesen dieser autolytischen Produkte.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Privatdozent Dr. **E. Bertarelli,** Assistenten.

Wie allgemein bekannt, haben Neisser und Shiga[1]) im Jahre 1903 den Vorschlag gemacht, zur aktiven Immunisierung gegen einige infektiöse Keime die autolytischen Produkte der Keime selbst zu verwenden, Produkte, denen sie die Bedeutung von „bakterienkörperfreien Rezeptoren“ beilegen wollten, und zwar nach der im Sinne Ehrlichs ausgelegten Immunitätstheorie.

Später machten sich Shiga und Lipstein[2]) daran, das Verfahren auch bei der aktiven Immunisierung des Menschen gegen den Typhus in Anwendung zu bringen. Kurz darauf versuchte ich an mir selbst[3]) die aktive Immunisierung gegen die Cholera.

An anderer Stelle habe ich über die erhaltenen Ergebnisse ausführlicher berichtet und fasse dieselben somit hier ganz kurz zusammen:

Am 1. April 1904 injizierte ich mir selbst 0,2 ccm autolytischer Produkte des choleragenen Vibrio; am 6. April 0,4 ccm, am 12. April 1 ccm und am 18. April noch 2 ccm.

Ein am 1. Mai vorgenommener Aderlaß zeigte, daß mein Blut eine Agglutinationsfähigkeit von 1 : 40 und ein mäßiges bakterientötendes Vermögen besaß. Vor der Inokulation dagegen war das Agglutinationsvermögen negativ und die Bakterienabtötungsfähigkeit geringer.

Gleichzeitig stellte ich auch Versuche an Kaninchen an, die es bestätigten, daß die autolytischen Produkte im Versuchstiere die Bildung bedeutender Quantitäten von Agglutininen, bakteriziden Substanzen und Antikörpern hervorrufen, die mit dem spezifischen Absorptionsverfahren Bordets und Gengous nachgewiesen werden können.

Es sei hier nur daran erinnert, daß nach Einverleibung einiger Kubikcentimeter autolytischer Produkte eines der Kaninchen der Cholera gegenüber ein Agglutinationsvermögen von 1 : 60, das andere dagegen ein solches von 1 : 250 aufwies.

Ich habe nun die Untersuchungen auf diesem Gebiete weitergeführt, obgleich das Impfverfahren mit freien Rezeptoren einer lebhaften Kritik

---

1) Neisser und Shiga, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.

2) Shiga und Lipstein, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 4.

3) Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 33.

nicht entgangen war. Tatsächlich hat man der Methode zur Last gelegt, daß sie den Mechanismus der Immunisierung nicht erkläre, und überdies die Impftechnik, ohne weitere Vorteile, unnötig erschwere.

Wer nun aber das Shigasche Verfahren ohne Vorurteil betrachtet, findet darin nichts, was es empfehlen könnte; im Gegenteil, in gewisser Hinsicht vermehrt diese Methode die gewöhnlichen Mißstände der Antityphus- und Anticholerainjektionen.

Was der Immunisierung mit autolytischen Produkten vor allem zu gute kommt, ist der Umstand, daß bei ihr nur durch die Kerze gegangenes Material verwandt wird, das also hinsichtlich seiner Sterilität ohne Schwierigkeiten kontrolliert werden kann. Dann kann ein weiterer Vorteil wohl dadurch erlangt werden, daß man zu den Inokulationen nicht den ganzen Bakterienleib verwendet, der ohne allen Zweifel stets nicht schützende und einer schädlichen Einwirkung auf den Organismus nicht entbehrende Teile enthält.

Ein unleugbarer Nachteil dieses Verfahrens besteht jedoch darin, daß, wenn man eine selbst mäßige Steigerung des Agglutinationsvermögens erhalten will, dazu verschiedene aufeinanderfolgende Injektionen mit durchaus nicht kleinen Mengen eines nicht rasch präparierbaren Materials erforderlich sind.

Auf jeden Fall dürfte der Vorschlag der Methode an und für sich nicht wertlos gewesen sein, besonders da sie uns ein praktisches Mittel an die Hand gibt, d. h. eine Injektion mit feinen „chemisch bestimmbaren“ Substanzen, die haltbarer sind als die gewöhnlichen Impfkulturen.

Es sei dabei auch des Umstandes gedacht, daß die mit einem von dem Shigaschen etwas abweichenden Verfahren erhaltenen autolytischen Produkte des Typhus und der Cholera in der Hand einiger Autoren ganz bedeutende Resultate abgegeben haben: So hat ganz besonders die kurze Arbeit Briegers und M. Mayers[1]) dargetan, daß die Autolysate des Typhus und der Cholera im destillierten Wasser eine hochgradige Bildung von Agglutininen und bakterientötenden Stoffen hervorrufen können. Nach den Angaben der angeführten Arbeit zu urteilen, kann kein Zweifel darüber obwalten, daß das Verfahren Briegers und Mayers sich zum Erhalt aktiver Materialien weit besser eignet.

Zu eben diesem Zwecke führe ich einige Untersuchungen an, die eine Klärung verschiedener Fragen im Auge haben, welche sich an die Immunisierung mit autolytischen Produkten knüpfen.

Was nun von diesen Fragen bei der Beurteilung des praktischen Wertes dieser Impfmethode vor allem von Bedeutung ist, ist zu erfahren, wie lange die verliehene Immunität dauert.

Bezüglich der Immunisierung gegen Cholera ist es leicht verständlich, daß wir uns vorderhand noch mit den Daten der Agglutination und des Bakterienabtötungsvermögens begnügen müssen.

Ich habe nun mit meinem Serum und dem Serum eines der gegen den Choleravibrio immunisierten Kaninchen einige Proben ausgeführt, die mir nachfolgende Daten lieferten:

An mir selbst:

Vom 1.—18. April war ich mit 3,6 ccm autolytischer Produkte immunisiert worden. Am 1. Mai war das Agglutinationsvermögen 1 : 40, am 16. August 1 : 25, am 4. Dezember 1 : 20.

---

[1]) Brieger, L. und Mayer, M., Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 27. In dieser Arbeit ist auch die einschlägige Bibliographie der vorhergegangenen Arbeiten Briegers und Schützes, Briegers und Mayers, Mayers, Conradis und anderer Verfasser wiedergegeben.

Somit war also auch nach 6 Monaten der Agglutinationswert bedeutend höher als der des normalen Serums.

Bei einem der immunisierten Kaninchen (Kaninchen N) waren die angetroffenen Werte, wie folgt:

Dem Kaninchen waren im April 5 ccm autolytischer Produkte injiziert worden. Nach der Immunisierung hatte das bakterizide Vermögen folgende Maximalwerte: Das Serum tötete bei 1 : 5 auch nach 24-stündigem Aufenthalt im Ofen die eingeführten Vibrionen (ungefähr 600), die Agglutination betrug am 14. April 1 : 250.

In den darauffolgenden Monaten wurden noch verschiedene Agglutinationsproben vorgenommen, die nachstehendes Ergebnis lieferten:

3. Juni	Agglutination	1 : 120
10. August	„	1 : 90
5. Oktober	„	1 : 40
5. Dezember	„	1 : 25

Hinsichtlich des Bakterienabtötungsvermögens wurde eine einzige Probe ausgeführt und zwar mit nachstehendem Ergebnis:

Aktives Serum.

Verdünnung des Serums	1	1 : 2	1 : 5	1 : 20
Kolonieen sofort	2100	1450	2000	870
„ nach 3 Stunden	0	0	10	200
„ „ 6 „	0	0	450	∞
„ „ 24 „	0	0	unzählige	∞

Die Immunisation des Kaninchens hatte sich also auch noch nach 6 Monaten, wenigstens dem Agglutinationsvermögen und der Bakterizidie nach zu urteilen, ziemlich gut erhalten.

Besonders die Abnahme des Agglutinationsvermögens war ziemlich langsam und nicht so erheblich, wie sie zuweilen bei Immunisierung mit nicht nach besonderen Methoden behandeltem Bakterienmaterial einzutreten pflegt.

Wie ich schon in meiner ersten Arbeit hervorgehoben habe, war es vorteilhaft, die Präparation eines konzentrierten Materials zu versuchen, das in geringem Volumen die von bedeutenden Quantitäten autolytischer Produkte erhaltenen Substanzen enthielt.

Etwas Aehnliches hat auch **Wassermann**[1] vor einigen Monaten unternommen, doch sind die darüber in seiner Arbeit befindlichen Angaben so gekürzt, daß es nicht leicht ist, sich über das von ihm dabei erhaltene Ergebnis ein genaues Bild zu machen.

Ich ging also nun in nachstehender Weise vor: Ich habe dazu den Typhusbacillus verwandt, den ich in rechtwinklig geformten Flaschen (und somit Flaschen mit flachen Wänden) züchtete, welche sich der Raumersparnis im Ofen wegen viel besser dazu eignen. Auf diese Weise erhielt ich dann weite Kulturoberflächen. Diese Fläschen wurden sterilisiert, dann in dieselben die notwendige Quantität Agar eingegossen. Nach Sterilisation und Erhärtung des Bodens wurde zu den Infizierungen geschritten, wozu dichte Typhusbacillusaufschwemmungen in Bouillon dienten. Die Gefäße verblieben 24—28 Stunden lang bei 37°, daraufhin goß ich unter aseptischen Kautelen eine passende Quantität physiologischer Lösung zu und schüttelte die eingeführte Flüssigkeit, bis sich die Patina in eine Emulsion verwandelt hatte, wonach die Emulsionen aller Gefäße angesammelt wurden. Nun tötete ich die Keime der Emulsion im 60°igen Wasserbad und ließ sie dann 2 Tage lang bei 37°, worauf ich das Material durch die Kerze filtrierte.

---

[1] **Wassermann**, Festschr. zum 60. Geburtstage **Kochs**. Jena 1904.

Die so erhaltene Flüssigkeit habe ich vor allem im 60°igen Wasserbade auf ein geringeres Volumen reduziert und dann im Vakuumexsikkator auf Kaliumchlorid ausgetrocknet. Zur Reduktion des Materials habe ich mich einer leichten Erhitzung auf 60° deshalb bedienen müssen, weil mir kein Vakuumapparat zur Hand war, der sich zu einem schnelleren Austrocknen bei Zimmertemperatur eignete.

Am Ende des umständlichen Verfahrens angelangt, erhielt ich kleine Quantitäten eines trockenen, pulverförmigen, stark kochsalzreichen, gelblichen Materials, das dann abgewogen wurde. Ich nahm es auf, dialysierte es in einem cylindrischen Cellulosedialysator 24 Stunden lang bei niedriger Temperatur und injizierte dann einem Kaninchen von dem dialysierten Material 0,0005 g (der erhaltenen trockenen Substanz — abzüglich das NaCl der Lösung —).

8 Tage nachher nahm ich am Kaninchen einen Aderlaß vor, wonach sich ein 1 : 40 entsprechendes Agglutinationsvermögen vorfand.

Einem anderen Kaninchen hingegen inokulierte ich 0,002 g, 6 Tage nachher Aderlaß, wobei sich das Agglutinationsvermögen 1 : 60 ergab.

Man beachte, daß ungefähr 1 mmg trockener Substanz dem von wenigstens 10 Agarkulturen gelieferten Materiale entsprach — wovon natürlich das in der zur Präparation der autolytischen Produkte dienenden Lösung enthaltene Kochsalz in Abzug zu bringen ist.

Es gestatten also die wenigen Versuche schon ohne weiteres zu folgern: Mit den ausgetrockneten autolytischen Produkten ist es uns möglich, im Kaninchen ein gewisses Agglutinationsvermögen zu erhalten.

Der Agglutininertrag ist jedoch sehr spärlich, wenn man damit die enormen zur Präparation des Immunisierungsmaterials verwandten Mengen vergleicht.

Ein solches Verfahren ist also wenig für die Praxis geeignet und durchaus nicht billig, ein Uebelstand, der, wenn auch in geringerem Maße, auch für die direkt in der Lösung oder in der Aufschwemmung erhaltenen autolytischen Produkte besteht.

Wie ich schon dargetan, haben sich die von mir erhaltenen Produkte unendlich weniger aktiv erwiesen als die mit dem Autolyseverfahren Briegers und Mayers gewonnenen. Die von mir verwandten Kulturen waren tatsächlich nur wenig aktiv, hatten sich jedoch bei direkter Inokulation im Besitze eines starken Agglutinationsvermögens erwiesen.

Was dann weiterhin geklärt zu werden verdient, war die Frage nach dem Wesen solcher autolytischen Produkte.

Was sind diese Produkte der Autolyse, denen Shiga die Bedeutung freier Rezeptoren gibt?

Ich schicke voraus, daß einige von mir mit dem Ruhrbacillus Shigas ausgeführten Versuche und andere, die ich von Dr. Cler mit einigen unzweifelhaft unbeweglichen und wimperfreien Kokken anstellen ließ, ohne weiteres die Behauptung zulassen, daß in verschiedenem Maße auch die autolytischen Produkte solcher Keime im stande sind, in den behandelten Tieren Agglutinine und Antikörper zu erzeugen.

Wenn es also auch möglich ist, daß das zur Tatsache wird, was schon **Gino de'Rossi**[1]) bei den Wimperfragmente enthaltenen Filtraten beobachtet hat, daß sie nämlich immunisierende Eigenschaften haben, so darf man andererseits doch auch nicht ausschließen, daß man auch ohne die Gegenwart von Wimperfragmenten (wie dies gerade bei den wimperlosen Keimen der Fall ist) schützende autolytische Produkte haben kann. Uebrigens ist es mir nach Filtration der autolytischen Stoffe des Typhus durch **Chamberland**sche F-Kerzen gelungen, mit jeder beliebigen Färbemethode Wimperfragmente nachzuweisen, was natürlich nicht ausschließt, daß sich in der Flüssigkeit auch von den Molekulargebäuden der Wimpern kommende Materialien vorfinden können.

Die chemische Bestimmung dieser Stoffe ist besonders angesichts der spärlichen, von den Filtraten aufnehmbaren Quantität dieser Substanzen, selbst bei Verwendung größter Kulturmassen, nicht leicht.

Um nun vor allem festzustellen, was man von dem flüssigen autolytischen Material mit Teilstürzung oder passender Sättigung bei Verwendung verschiedener Materialien niederzuschlagen im stande ist, habe ich einen Weg eingeschlagen, der von dem uns am einfachsten und natürlichsten erscheinenden etwas abweicht.

Ich verfuhr folgendermaßen: Nach Erhalt der filtrierten Flüssigkeit (die dazu verwandten Patina wurden in diesem Falle mit einem Spatel direkt aus den Kulturflaschen entnommen, um zu vermeiden, daß in die Flüssigkeit die lösbaren organischen Materialien des Kulturbodens eindringen) teilte ich sie in 3 Teile. Der erste Teil wurde in seinem Volumen reduziert, seine organische Substanz dann mit Schwefelsäure zerstört, und der Stickstoff mit dem **Kjeldahl**schen Verfahren bestimmt. Auf diese Weise erhielt ich den Gesamtstickstoff der autolytischen Flüssigkeit. Der zweite Teil wurde mit Magnesiumsulfat gesättigt, 24 Stunden auf 30°, dann auf 15° belassen, durch einen kleinen Filter geführt, der sich stickstofffrei erwiesen hatte. Das Filtrat wurde nun gut gewaschen und dann ausgetrocknet, wonach Filter und Filterrückstand dem **Kjeldahl**schen Verfahren unterzogen wurden. Auf diese Weise erhielt ich die bei vollständiger Magnesiumsulfatsättigung niederschlagbaren proteischen Fraktionen in Stickstoff ausgedrückt.

Der dritte und letzte Teil wurde zur Hälfte mit Ammoniumsulfat gesättigt und sodann filtriert. Das Filtrat wurde mit anderem Ammoniumsulfat gesättigt, dann wieder filtriert und gewaschen; Filter und Rückstandsmaterial in einem Mörser so lange zerstampft, bis sie eine homogene Masse ausmachten; daraufhin dialysierte ich einige Zeitlang auf Chloroform in einem cylindrischen Cellulosedialysator. Es gelang mir jedoch nicht, alles kombinierte Ammoniak zu entfernen, das also die Ergebnisse hinsichtlich der proteischen, durch Sättigung mit Ammoniumsulfat niederschlagbaren Fraktion nach Entfernung der durch Sättigung stürzbaren proteischen Substanzen (Globulin, Euglobulin etc.) geändert haben dürfte. Eben deshalb teilte ich das Material nach 40--48-stündiger Dialyse bei niedriger Temperatur in 2 gleiche Teile. Aus einem derselben destillierte man das Ammoniak, indem man es mit Soda von seinen Salzen löste. So erhielt ich das Quantitativ von NH_3 und N, was den im Material noch zurückgebliebenen und dialysierten Ammoniaksalzen zugeschrieben werden kann. Der andere Teil wurde nach **Kjeldahl** behandelt und von dem bei der Destillation bestimmten Stickstoff wurde

---

1) **de'Rossi**, G., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII.

jener abgezogen, der zu den im dialysierten Material verbliebenen Ammoniaksalzen gehörte. So erhielt ich als letzten Wert den Stickstoff der durch komplette Sättigung mit Ammoniumsulfat nach vorausgegangener Entfernung der globulinen Fraktionen gestürzten proteischen Substanzen.

Wie man also hieraus ersieht, war die Bestimmung nicht nur sehr genau, sondern ich ersparte es mir auch, vom Filter Material aufzunehmen, das so spärlich und variabel ist, daß dadurch das gewöhnliche direkte Abwägeverfahren sehr erschwert wird.

Nachstehend einige Ziffern der ausgeführten Bestimmungen:

I. Bestimmung.

a) Totaler Stickstoff von 100 ccm autolytischer Produkte, N = 0,00505 g.

b) Stickstoff der in 100 ccm Magnesiumsulfat fällbaren Proteinfraktion, N = 0,0042 g.

c) Stickstoff der mit Ammoniumsulfat fällbaren Proteinfraktion nach Abzug der mittelst Sättigung gestürzten Fraktion (100 ccm), N = 0,0015 g.

II. Bestimmung.

a) wie oben. N = 0,00645 g pro 100 ccm
b) „ „ N = 0,00420 „ „ 100 „
c) „ „ N = 0,0019 „ „ 100 „

III. Bestimmung.

a) wie oben. N = 0,01036 g pro 100 ccm
b) „ „ N = 0,00750 „ „ 100 „
c) „ „ N = 0,00190 „ „ 100 „

IV. Bestimmung.

a) wie oben. N = 0,01540 g pro 100 ccm
b) „ „ N = 0,00600 „ „ 100 „
c) „ „ N = 0,00500 „ „ 100 „

Es ist ganz und gar selbstverständlich, daß die Werte dieser Bestimmungen für uns hinsichtlich ihrer Beziehungen zueinander und nicht bezüglich der absoluten Werte des in den autolytischen Produkten enthaltenen N von Interesse sind. Ebenso versteht es sich von selbst, daß bei der ersten Bestimmung und in geringerem Maße auch bei den übrigen numerische Mißklänge bestehen (der Totalstickstoff der ersten Bestimmung ist geringer als das N der Teile), die entschuldbaren Bestimmungsfehlern entspringen.

Aus dem Vergleiche dieser Daten ergibt sich, daß die größte Quantität der in den autolytischen Flüssigkeiten vorhandenen proteischen Substanzen durch die mit Magnesiumsulfat fällbaren proteischen Fraktionen dargestellt ist.

Allerdings finden wir zwischen einer Bestimmung und der anderen bemerkenswerte Unterschiede, immer aber bleibt uns das Resultat, daß diese proteische Fraktion stets überwiegend ist, und zwar oft 8—9 Zehntel des ganzen proteischen Materials ausmacht.

Was sind nun diese Substanzen? Sind es Globuline (ich verstehe unter diesem Namen alle globulinen, euglobulinen etc. Fraktionen) oder sind es zur Gruppe der Proteide gehörige Verbindungen?

Es liegt nicht in meiner Absicht, mit Hilfe der biologischen Chemie eine Frage zu lösen, die doch schließlich nur mittelmäßiges praktisches Interesse bietet.

Die wenigen angestellten Proben haben dargetan, daß die Fraktion proteischer, mit Magnesiumsulfat gefällter Substanzen zwar zu gutem Teil in 5-proz. Kochsalzlösung sich auflöst, aber während der Dialyse sich niederschlägt.

Die Phosphorprobe mit Molybdat spricht überdies dafür, daß diese Materialien sehr phosphorreich sind. Die mit Serumglobulinen angestellten Kontrollversuche haben bezüglich des Phosphorgehaltes beider Produkte ungeheure Unterschiede festgestellt.

Es ist somit sehr wahrscheinlich, daß der größte Teil der stickstoffhaltigen Substanzen der autolytischen Materialien aus Proteiden und vielleicht auch aus Nukleinen besteht, nicht aber aus Globulinen. Es dürften also, wenigstens großenteils, die autolysierten Materialien aus Nukleinen bestehen.

Es lassen sich somit aus dem Gesagten nachstehende Schlußfolgerungen ableiten:

1) Die von Shiga vorgeschlagene Immunisationsmethode mit autolytischen Produkten bewirkt auch der Cholera gegenüber bei Menschen und Tieren das Auftreten von Agglutininen und bakterientötenden Substanzen.

Damit aber der Agglutinationswert auch nur mittelmäßig sei, dazu bedarf es bedeutender Quantitäten des Inokulationsmaterials.

In dieser Richtung scheinen also die Ergebnisse nicht mit denen vergleichbar zu sein, die Brieger und Mayer mit ein wenig anders präparierten Autolysaten erhalten haben.

2) Die Immunisationsdauer ist bemerkenswert und kann mit derjenigen verglichen werden, die mit den anderen Systemen der aktiven Immunisation erhalten wird.

3) Die autolytischen Schutzprodukte können auch in Form von Trockenprodukten erhalten werden und besitzen auch dann noch ziemlich bedeutende Schutzkraft.

Diese Methode ist jedoch teuer, erfordert ungeheure Mengen Material, und so besitzen wir also in ihr keine praktische Methode. In dieser Hinsicht bietet die Shigasche Methode allerdings durchaus nicht die Vorteile der anderen Verfahren, doch liefert uns die Anwendung derselben ein garantiert steriles Material, das außerdem frei ist von wahrscheinlich nutzlosen und vielleicht selbst schädlichen Bestandteilen des Bakterienleibes.

4) Auch von nicht bewimperten Keimen kann man autolytische Schutzprodukte erhalten; die Wimpern können also Bestandteile der autolytischen Produkte sein, sind es aber nicht notwendigerweise.

5) Das autolytische Material des Typhusbacillus besteht aus stickstoffhaltigen Substanzen, die zum guten Teile durch Magnesiumsulfatsättigung gestürzt werden und sehr phosphorreich sind. Aller Wahrscheinlichkeit nach besteht also ein großer Teil dieses autolytischen Materials aus proteischen Substanzen aus der Gruppe der Nukleine.

Nachdruck verboten.

On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum.

[From the Institute for the Investigation of Infectious Diseases: University of Bern (Director Prof. Dr. Tavel).]

By Dr. **Henry J. Südmersen.**

With 1 fig. and 1 diagram.

Introduction.

The following investigations were commenced in Nov. 1902 for the purpose of ascertaining the cause or causes giving rise to an epidemic among the rabbits used for experimental purposes in the above institute, of which the most remarkable symptoms were rapid and constant loss in weight associated generally with a rhinitis. It was soon observed however that symptoms were presented in other cases which differed from the above although it appeared probable that if not identical the diseases were in all cases related to one another, since the lung was the organ affected. It became necessary therefore to investigate the various cases as they arose in order to determine whether the different symptoms corresponded to different diseases, or whether they were merely different manifestations of one and the same disease. It was noticed for example that rabbits were at times troubled with a diarrhoea and nasal flow, without considerable loss in weight. These animals died suddenly. A post mortem examination showed that the lungs were in most cases almost completely hepatised and shrunken together, while in addition the pleura and pericardium together with considerable portion of one or both lungs were found to be occupied by thick purulent material.

In other cases the flow from the nose was less of a purulent nature; in some it was watery, in others the discharge was whitish, mucus like, and slimy, the animals so affected were troubled with more or less violent fits of sneezing from time to time.

Some of the above variations were thought to be due to a more or less chronic or acute form of one and the same disease, on the other hand, evidence also pointed to the fact that we have here to do with various kinds of lung infection occurring in rabbits. That which strikes one at first is the almost constant occurrence of a rhinitis and diarrhoea, so that one is easily inclined to suppose that these are all important symptoms of one and the same disease, this is not the case however since these features present themselves either associated or apart under the most varied conditions irrespective of the disease from which the animal may be suffering. They may be present in coccidiosis as well as in lung affections and septicaemias to which rabbits are susceptible, or may occur in animals otherwise quite healthy, and must therefore be looked upon as phenomena to which rabbits are extremely liable, especially so when their resistance is lowered by disease or otherwise, and in themselves constitute no feature of importance in diagnosis. In the course of this work evidence was obtained of a difference in distribution of various infections throughout the year, that with which I chiefly concerned myself arises in autumn or spring during periods of sudden weather changes, more particulary during the damp and cold months of November and December.

It was part of the object of this work to find out whether a microorganism, or microorganisms of different degrees of virulence, or of which the seat of activity in the various cases resided in different organs would account for the above differences. If due to microbic activity the properties of the organism found to be the cause of the most prevalent infection were to be specially studied, and an attempt made to produce an immune serum, failing which to find out other means of prevention or cure. A microscopic examination of a smear preparation from the lungs of several cases occurring at about the same time in Nov. 1902 when the work was started, revealed the presence of large numbers of a small microorganism resembling a small elongated Diplococcus, but which was decolorised by Gram's method. This was found in smear preparation from apparently normal portions of lung as well as from the consolidated parts. A similar bacillus was observed in culture on agar inoculated from a portion of lung after 48 hours incubation at 37° C; in many cases in pure culture. An intratracheal injection of a pure culture gave rise to similar symptoms and later to the death of a rabbit. It is the infection from this Bacillus to which my attention has been chiefly directed; it occurs principally in autumn during the months from October to December, when it is most fatal. At other times of the year it occurs sporadically especially in animals which have been injected for some experimental purpose whereby their resistance has been lowered. The characteristic appearance is a loss of weight of the animal affected, generally accompanied by a rhinitis more or less pronounced, and often by diarrhoea. The temperature is generally normal until a short time immediately before death, at which time it is subnormal. The symptom of greatest value in the diagnosis is the loss of weight, the rate of this being roughly a measure of the severity of the case.

Having satisfied myself of the aetiological relationship of the bacillus to this particular disease I proceeded to the last and most important objects of the investigation viz: to find out whether an immune serum could be obtained, and whether rabbits might be rendered immune by previous injections of attenuated culture. Active immunity brought about by the injection of culture as is well known is more lasting in its effects than the passive immunity resulting from the injection of an antiserum from another animal, especially should this animal be of a different species. The effect of the injection of antiserum is in all probability nothing more than that arising from the quantity of immune body so introduced, and this soon disappears from the circulation. In the case of vaccine on the other hand an active response on the part of the animal is called forth; the cells are stimulated to the production of immune bodies, and having been so acted on it is conceivable that the cells become accustomed so to speak to respond readily to this specific stimulus, and are thus able readily to guard themselves against subsequent attacks from the same organism 1).

The results of the experiments conducted with this end in view show 1st that an efficient serum may be produced by the injection of

---

1) This property may transmitted to the cell descendants since reproduction takes place by division and it is not to be wondered at if the two halves of a dividing cell possess unimpaired the properties of the parent cell.

increasing doses of a culture of the Bacillus A into a rabbit, starting at first with cultures previously heated to a temperature of 60—62° C for a half-hour, and following this up with the injection of living culture; 2nd that the injection of a culture heated to the temperature of 60—62° C as above given is able to confer an immunity on the injected animal.

While following up this line of investigation I continued to study cases of infection as they arose, in order to determine whether all cases of rhinitis were due to the activity of one or several species of microorganism, and also to determine how far this excretion could be relied on in diagnosis, in other words whether it was an essential or a mere accidental concomitant of the disease. I have found that such a rhinitis may arise as the result of the most varied diseased conditions. In cases where the animal has died from a pneumonia arising from the presence of Bacillus A, this same bacillus was likewise present in the nasal exudate, often in pure culture. Whether it is always present under these circumstances I am unable to say, but am inclined to suspect that cases of this lung infection may occur where quite a different bacterial flora exists in the nasal excretion; this suspicion has been forced upon me by the fact that occasionally I have failed to find the bacillus in culture although an abundant growth of other organisms was obtained from the nasal excretion whereas the lungs were found to contain the bacillus in nearly pure culture. It is however quite certain that a rhinitis does occur with other infections and even with diseases other than those of the lung; in these cases the results of bacteriological examination are quite different. In how far these differences correspond to differences in the nature of the discharge, which varies in consistency in different cases I have not had the opportunity of determining. A thorough examination of the exudate of both healthy and infected animals, and a correlation of these results with those obtained from an examination of the lungs was not made for want of necessary time.

Since in general the Bacillus A is found in the nasal discharge in cases of lung infection by this organism, an examination of this discharge is of use as an aid to diagnosis. It must be borne in mind however that in the outer layer of mucus its presence is often masked by the great abundance of various other organisms which makes its detection a matter of difficulty. It is best to remove this by means of a plug of cotton wool previously wrung out in lysol, the platinum loop should then be inserted as far as possible. This operation causes the animal to sneeze, it is therefore necessary that an assistant dilates the nose and holds it steady during the time. From this an agar surface may be inoculated, and broth culture made from colonies in order to make the agglutination test. This can be made 48 hours after removing the material from the nose. A smear preparation should be stained after Gram's method, and antitoxic serum should be injected at once, if a large quantity of a very minute and short bacillus not stained by Gram is found to be present.

The results of the numerous post mortem examinations made in the course of these investigations show that the Bacillus A was present in the lungs in 68% of all animals affected with a pneumonia. In the majority of cases this was the only organism observed in smear preparation from the infected lungs; and this appeared often as a pure growth on the surface of agar. A Staphylococcus was also obtained in many cases, while in a few others I obtained a bacillus belonging to the Coli group.

At various times large numbers of Guinea pigs have died with similar symptoms to those of rabbits infected with Bacillus A. From the lungs of these Guinea pigs the above bacillus in pure culture was likewise obtained; no morphological or biological difference could be detected between bacilli obtained from the lungs of the Guinea pig and those from the lungs of the rabbit; and both were agglutinated by the specific serum in high dilution.

Having now reviewed the objects and principal results of the investigation, I will briefly refer to work which has already been done bearing upon the same subject.

In the year 1893 Beck described a similar infection. From the lungs of affected rabbits he obtained a bacillus which formed a slimy and abundant growth on agar, and which grew well in bouillon forming a stringy sedimentary growth with clear supernatant liquid. This bacillus was characterised by its inability to grow on potato. The author does not mention whether indol was produced in peptone bouillon, or gas in sugar culture media. The characters of this bacillus mark it as being quite another organism than the Bacillus A. The nose is described as being moist and sneezing a prominent symptom.

Rudolf Kraus described a lung infection of rabbits in 1897. A very complete account of the morphological and cultural characters of the bacillus was given. He gives sneezing as a preliminary symptom, at which time the nose becomes moist, and later blocked up by a purulent discharge. It is interesting from the point of view of the dependence of the nasal exudation on the pulmonary infection that the mucous membrane of the trachea appeared mostly normal, and in only one case was any abnormality observed, the blood vessels of the submucosa being injected together with desquamation of the upper layers of the epithelium. I have shortly discussed this above and will return to it more fully when describing the results of post mortem examinations. The Bacillus of Kraus appears to agree in all essential characters with the Bacillus A, on potato the growth is similar, indol is not formed in peptone bouillon an milk not coagulated. The author fixes the thermal death point at 100°. This is remarkable for a non spore forming organism. I find that an exposure of 10 minutes to a temperature of 62° C is sufficient to kill Bacillus A under all conditions of age and culture. It appears also from the results, although the amount of culture injected in the various experiments is not given, that the author had to deal with a more virulent organism than that with which I worked. It is interesting to note that although intratracheal and intrapulmonary injection rapidly caused the death of Guinea pigs, the infection could not be reproduced in these animals by nasal inoculation in contradistinction to the results when rabbits were so treated. The author makes a comparison with the very similar infection previously described by Beck; whose bacillus however, is non-motile and does not grow on potato. In these and in certain peculiarities in culture Beck's bacillus in quite different from Kraus' bacillus. Kraus writes: „Wenn auch die morphologischen und biologischen Eigenschaften dieses Beckschen Bacillus mit dem beschriebenen Bacillus viel Aehnlichkeit aufweisen, so ist in dem typischen Wachstum unseres Bacillus auf der Kartoffel gegenüber dem negativen des Beckschen ein genügendes Kriterium gegeben, diese beiden, für Kaninchen pathogenen Mikroorganismen auseinanderzuhalten; daher, so ähnlich auch die beiden Seuchen erscheinen, sind sie doch voneinander zu trennen.“ The author also attempts to draw a difference in the more extended surface of diseased mucous membrane of the nose than that found by Beck.

In the Centralbl. f. Bakt. etc. 1902—1903 is a reference to a work of Tartakowsky on a contagious pneumonia of Guinea pigs. The infected animals have a temperature which is described as subnormal, the region around the anus is covered with faeces, the breathing is superficial, and dround the nose there exists a dirty yellow exudation. The lungs were affected in different degrees from hyperaemia to yellow hepatisation in animals which had died from infection. The spleen was small. From the lungs the author obtained a bacillus which often appeared paired, and did not stain by Gram's method. The bacillus grows well on agar forming bluish transparent colonies with sharp borders, the superficial reaching a diameter of 2,5 mm the deeply lying colonies are less transparent, of a yellow color and lens shaped. On potato the growth is described as brownish-yellow; bouillon appears uniformly clouded on the 2nd day, and soon after a yellowish deposit growth which rises as a thread-like mass when the bouillon is disturbed; milk is not coagulated, and gas is not developed in sugar media. The growth is abundant on the surface of all ordinary media if slightly alkaline. Agar cultures retain their vitality for $3-3^1/_2$ months.

All the above properties show conclusively that this bacillus if not identical is closely allied both to Kraus' bacillus and to my Bacillus A. No special notice appears to have been taken of the growth on potato as being characteristic, although its brownish yellow colour conforms to that found in the last mentioned. I have variously described the colour as brownish white to brownish yellow or reddish in young culture, this becomes of a yellowish red or waxy yellow appearance in old culture. Slight differences are to be ascribed to the potato used. Tartakowsky's bacillus is stated to be non motile and to produce no film. In both these characters is appears do differ from Bacillus A, possibly observations were not made on sufficiently young cultures. Although it is stated that Tartakowsky's Bacillus produced no film, it was very feebly anaërobic and grew abundantly on the surface of culture media. In some of my earlier cultures no film was at first obtained, but always the somewhat slimy deposit which rises „fadenziehend in die Höhe“ when disturbed. Later I obtained surface films almost constantly on broth. One observes also that a diphtheria culture when obtained from the patient will often not form a film at first, it requires some training so to speak, before it becomes adapted to the formation of a good film. Neither the motility therefore, or the capability of producing a film can be considered characters of such consequence as to allow of the separation of these organisms specifically from one another. At most I think they should be considered as varieties, and probably more correctly as different strains of the same species.

Kraus isolated his bacillus from the lungs of rabbits which had died of a pneumonia while Tartakowsky's bacillus was obtained from the lungs of Guinea pigs similarly affected. They both correspond in their essential characters with my Bacillus A obtained from rabbits and Guinea pigs affected with a pneumonia, of which the identity from both sources has definitely been proved by the agglutination test.

According to Tartakowsky rabbits and Guinea pigs are susceptible to infection by artificial inoculation, on the other hand Guinea pigs alone become spontaneously infected, or are susceptible as a result of the introduction of the culture in the nose. On the other hand Kraus found that rabbits alone were susceptible to infection by intranarial injection of culture, the same experiment was without result on Guinea pigs, although intratracheal injections caused the death of all the Guinea pigs experimented on. Neither author gives statements to show the percentage of animals affected in the various experiments recorded, and there is no information of the dose of culture given. According to my experiments the infection is not always transmitted, unless the quantity of culture injected be large, or in spontaneous cases unless the animals are a sufficient length of time together. There is in fact a very great similarity in these respects to human pneumonia which is less readily transmitted than many other infections, and is by no means always terminated fatally. By feeding constantly together the infection is most readily spread among rabbits. Since according to Kraus the infection arises by intratracheal injection it would seem probable that a sufficient quantity injected in the nose of his Guinea pigs would have produced the disease as it did in the rabbits on which he performed this experiment. It is in agreement with my results that nasal injection is not followed by a result unless continually applied. It is very difficult to be sure of one's positive results at a time when the infection prevails. The cages at my disposal were separate and were constantly sterilised in every part by weak lysol. The animals were obtained from another source than the institutes stock during times of infection and were brought directly into the sterilised cages. In most experiments young animals which as far as could be ascertained had never shown any symptoms of infection were used. By these means I became sure of my results, there being no possibility of cases arising spontaneously under such circumstances. It is necessary to use every precaution in order to prevent spontaneous cases arising in the experiment animals.

The susceptibility of Guinea pigs to artificial infection with the bacillus of Kraus obtained from rabbits on the one hand, and the susceptibility of rabbits to artificial infection with the bacillus of Tartakowsky obtained from Guinea pigs on the other hand confirm further if that were necessary the identity of the organisms in the two cases, so that accepting the authors' statements relating to the spontaneous non-transmissibility of these organisms to the other animal in each case, we have here an instance of parasitic specialisation, in that the same bacillus has become adapted to existence on two different species of animals without other coincident modification. I have not confirmed this interesting result; in my experiments the bacillus from the rabbit when injected in the thorax of Guinea pigs gave rise to a pneumonia from which the animals died; and one case which came under my notice favours the view of the mutual spontaneous transmissibility of the infection. A Guinea pig apparently quite healthy and from the stock in which the contagion had not appeared was placed in the same cage with a rabbit in which the disease was beginning to manifest itself.

Both animals died from the infection, a pure culture of Bacillus A was obtained in each case from the lungs.

That such a parasitic specialisation may occur is quite possible, as appears to be the case with Bacillus tuberculosis, which according to Prof. Koch is not transmissible from cattle to man; although all its other characters are very closely identical whether the bacillus has been derived from man or cattle. Numerous observations and experiments which have since been made show that this is not strictly the case, the Bacillus derived from the one species is however less virulent for the other. We have here then a case of parasitic specialisation, the same bacillus having become modified biologically in two directions according to the different tissues to which it has become adapted. The Avian tubercle bacillus may represent a still further departure from the original stock.

Descriptions of microorganisms.

The organisms to be described were all obtained from the respiratory tract, generally from the lungs or trachea of rabbits which had died from some form of pneumonia attended with a rhinitis. It is highly probable, as already remarked, that under certain circumstances other microorganisms than the Bacillus A may be the cause of this disease in rabbits. It may arise secondarily as a complication of an already existing primary infection of some other organ in the same way that other organisms than the Pneumococcus may be the cause of a pneumonia in man.

A thorough examination of the various bacteria occurring in the noses of healthy and infected rabbits is necessary in order to determine the connection which probably exists in some cases between the rhinitis and the pneumonia.

Some of the descriptions are very short and incomplete, their insertion may however serve as a guide for future work.

Bacillus A. As already stated this was found in the majority of cases and is closely identical with the bacillus of Kraus and Tartakowsky. In most cases it occurred in the lungs in pure culture, was present in the trachea and in the nasal excretion sometimes in pure culture. In the nasal excretion however it was more often associated with other microorganisms such as various cocci and bacilli, Bacillus fluorescens liquefaciens being often present. In smear preparation from the tissues it has the form of a small Diplococcus or Diplobacillus, is decolorised by Gram's method, and is often surrounded by a halo as though encapsuled. It grows well on all ordinary media. The bacillus is seen to possess a very active motility in hanging drop, typically this consists in a movement which may be compared to that of the wheel of a vehicle in motion in other words there is rotation about a central axis combined with a forward motion. Sometimes the rotation is only partially executed, it then executes a wriggling motion as it progresses. Rotation may occur without change of place, and bacilli are observed suddenly to come to rest and remain quiescent, while stationary bacilli will often be observed to start in motion at first as though struggling to free themselves from some impediment, perhaps caused by adhesion to the neighbouring organism. The cessation of motion in the one and its commencement in the other probably corresponds to loss of this function in the one and of its acquirement by a young bacillus in the other case, since the smaller are observed to start motion, while bacilli which come to rest are generally longer and therefore presumably older. I have examined old dry cultures on agar, potato, broth, and gelatine, but have never been able to find any evidence of spore formation. One often finds in such cultures that certain forms possess more strongly stainable areas, the thermal death point of such cultures however is not higher than that of a fresh culture. The thermal death point was determined in broth cultures and compared at the same time with a Colibacillus obtained from the pharynx of an infected rabbit (Bacillus D). The cultures were placed in a water bath together with a control tube of bouillon into which a thermometer was placed in order to indicate when the temperature in the tubes had attained that of the surrounding water. A loop-full of culture was removed from time to time, this was well-shaken in agar kept liquid during the operation by immersion in water at a temperature of 42° C, and plates poured. Bacillus A proved to be less resistant to heat than the Colibacillus. The following result is chosen as an example.

Time of exposure of culture to a temperature of 60° C	No. of cololonies on agar	
	Bac. A	Bac. coli (Bac. D)
0 mins.	innumerable	innumerable
5 „	12	very large no.
10 „	0	20
15 „	0	0
20 „	0	0

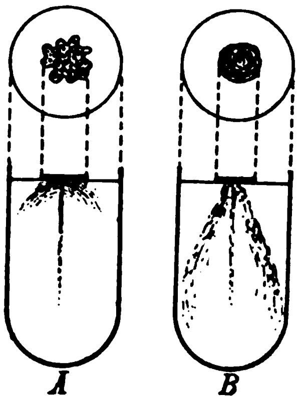
It retains its vitality for a long time in culture, on agar for more than 4 months. Its low resistance to heat in conjunction with its long vitality under saprophytic conditions are of interest in connection with the fact that it is transferred from one animal to the other through the respiratory tract. Colonies in agar are not visible before the second day, those of the surface being generally 1—2 mm in diameter, of a pale bluish grey appearance with entire and well defined margins. In the depth of the agar the colonies are smaller, of a brownish yellow colour by transmitted light and are less transparent than the surface colonies. Under the microscope they are seen to be finely granular and homogeneous without channeling of any kind. Surface colonies are sometimes observed surrounded by a halo, the width of which is generally less than that of the colony itself. The colony is sharply marked off from the halo and this from the surrounding medium. I am inclined to associate this appearance with that which is sometimes seen in agar stab culture referred to below, and is due to growth below the surface. Colonies which possess a jagged margin are observed at times, but both this and the halo appearance are exceptional and probably arise from some condition of the media. Both forms occur in association with the normal form.

Agar culture. An abundant pale bluish growth appears on the second day of incubation, which when raised from the surface by means of a platinum needle exhibits a glutinous consistency. In stab culture there is little growth along the line of puncture, whereas on the surface it often extends to the wall of the tube within a few days. Agar coloured with neutral red becomes decolorised and slightly fluorescent; and when coloured red by a faint excess of alkali after the addition of

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

phenolphthalein does not at any time lose its colour. Neutral litmus agar becomes blue, at no time is acid produced. The form of the Bacillus on agar is always that of a very small Diplobacillus; and under none of the various conditions to which agar cultures have been subjected have involution forms appeared. The long bacilli which appear in broth, always return to the small Diplobacillus form when transplanted to agar.

I have often noticed in agar-stab cultures of this organism a peculiar cloudy parachute-like form of growth extending downwards into the medium. Another appearance is sometimes presented as a somewhat diffuse nebulous growth around the track of the needle. This broadens out and at the same time becomes less distinct in proportion to its depth from the surface, and possesses the form of a cone of which the apex coincides with the point of introduction of the needle on the surface. As above mentioned colonies are sometimes provided with a nebulous halo. The probable explanation of these appearances is that growth is taking place in agar which has become locally impregnated with air. In stab culture air has found its way between the agar and the wall of the test tube by the contraction of the former, or has been carried down with the needle during inoculation.



Surface and lateral views of phenomena sometimes presented in stab culture of Bacillus A.

Gelatine is not liquefied. The growth on the surface of stab culture is abundant but does not as a rule extend to the wall of the test tube; its margin is crenate; the surface is often marked with radial and wavy concentric striae. The colour becomes of a dull brownish grey.

Bouillon. Growth takes place best in bouillon made exactly neutral to litmus. At the is end of 24 hours incubation at 37 ° C the broth slightly cloudy, and when shaken gives rise to a peculiar wavy shimmer similar to that noticed in young typhoid cultures and which appears to be connected with the motility of the organism. On the following day there is usually a slight deposit and the broth is very turbid. If the culture is allowed to remain undisturbed, a slight film will make its appearance by the 5th or 6th day, together with an abundant somewhat viscous sedimentary growth. If this film is carefully transferred to the surface of fresh bouillon a good thick grey film somewhat similar to that of the diphtheria bacillus will appear. The ease with which film formation takes place appears to vary with different strains, some produce a thick grey film at once without special care being taken while others require careful training by the above method. Those strains which so readily form films have likewise a greater tendency to assume the long bacillary form in broth culture, those on the other hand which form films with great difficulty produce mostly short bacilli in broth culture. The deposit growth has a slimy consistency and floats upwards as a stringy mass when disturbed. At no time has indol been detected in peptone bouillon. In glucose broth there is no gas production. In very old cultures zigzag and curved forms of variable breadth often occur.

Milk is not coagulated, but assumes a brownish grey appearance in old culture. Neutral litmus milk becomes strongly blue; acid is at no time formed.

Potato. The growth on potato is characteristic, it is abundant, and becomes a pale yellowish red after a few days; the potato itself is often stained a dull slate grey, but sometimes the colour is not altered as this depends on the potato used. As above mentioned the colour of the culture itself varies slightly, sometimes it is best described as brownish yellow, and often as of a pale ochreous yellow colour, old cultures often have the appearance and colour of plastic sulphur. In young cultures it is viscid in consistency. No involution forms appear either in young or old potato cultures; it always grows as a short Diplobacillus.

Bacillus B. This was obtained from the lungs and trachea of several rabbits which became suddenly infected towards the latter end of January 1903. The symptoms were in all essential respects similar to those of animals infected with Bacillus A; viz: loss of weight and moisture around the nose. The lungs were hyperaemic; all other organs appeared normal. In none of these cases did I find Bacillus A although a large number of plates were poured and colonies carefully selected. The lungs were crowded with a small bacillus like Bacillus A and yielded a pure culture of a similar bacillus on agar. The appearance of the growth on agar was the same as that of Bacillus A. After having examined many cases in which Bacillus A was obtained from the lungs I was easily led to conclude that this was the same bacillus, and this conclusion was still further supported by the apparently identical symptoms in the two cases. From all these considerations it was a matter of surprise to me to find that this bacillus gave rise to gas in glucose broth culture. At first I throught it might be due to some admixture with another morphologically similar organism which caused me to replate the cultures and confirm their purity. As above remarked and as has been noted by Kraus, the bacillus of Beck although exhibiting peculiarities which separate it from Kraus' Bacillus and therefore from my Bacillus A nevertheless agrees in its morphology and in its appearance on agar and in broth culture. In Bacillus B we have yet another bacillus which is indistinguishable from these unless a careful investigation of its cultural characters is undertaken. Little reliance can therefore be placed on a mere microscopic examination, or on the appearance of agar or bouillon culture in the diagnosis of pulmonary infections to which rabbits are subject.

An injection of 0,5 ccm broth culture in the trachea of a rabbit caused a rapid fall in weight continuing for several days; the animal recovered. A rabbit in the trachea of which 3 ccm broth culture had been injected died on the tenth day following. An intraperitoneal injection of 0,5 ccm in a Guinea pig was without effect.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion.

Ein Beitrag zur Serumdiagnose beim Rotz.

[Aus dem pathologischen Institute der kgl. Universität Padua
(Vorstand: Prof. Dr. A. Bonome).]

Von Prof. Dr. **A. Bonome.**

Mittels genauer und vollständiger bakteriologischer Untersuchung ist es manchmal gelungen, die Gegenwart des Rotzbacillus in den intermaxillären und peritrachealen Lymphdrüsen nachzuweisen, und zwar bei wegen Rotzverdacht getöteten Pferden, die bei der Sektion keine der charakteristischen Veränderungen durch die Rotzinfektion zeigten. Die Lymphdrüsen erschienen geschwollen und weich und hatten an der Schnittoberfläche ein grauweißes, nicht käsiges Aussehen, ohne irgend eine Grenze zwischen der Kortikal- und Medullarsubstanz, so daß man bei einer makro- und mikroskopischen Untersuchung annehmen mochte, es könnte sich um eine einfache hyperplastische Lymphadenitis handeln. Da andererseits diese Pferde keine der charakteristischen Krankheitsveränderungen zeigten, so war auch klinisch keines der klassischen Krankheitssymptome bemerkbar, jedoch reagierten die Tiere auf Malleïninjektionen mit einer Temperaturzunahme von zweieinhalb Centigraden.

Dieser bei lebenden Pferden nicht sicher diagnostizierbaren Form der Rotzkrankheit, die auch nicht bei der Nekroskopie, sondern nur durch eine genaue und vollständige bakteriologische Untersuchung einiger Organe, wie z. B. der Lymphdrüsen, nachgewiesen wird, gibt man mit Recht den Namen versteckter oder latenter Rotz.

In solchen Fällen ist es von großer und praktischer Bedeutung, nicht nur die Krankheitsdiagnose zu stellen, sondern auch gründlich zu untersuchen, ob die Möglichkeit einer Uebertragung des infektiösen Prozesses auf andere Pferde und auf den Menschen vorliegt.

Die Malleïnprobe hat bei diesen an latentem Rotz leidenden Pferden eine gewisse Bedeutung, man kann jedoch den thermischen und organischen Malleïnreaktionen keinen absoluten Wert zuschreiben, weil erstens nicht alle malleïnisierten Pferde, die thermische und organische Reaktion geben, auf Grund der Erfahrung als rotzkrank angesehen werden können, und weil zweitens die thermische Reaktion bei wiederholten Malleïninjektionen sich bis zum Verschwinden abschwächt, ohne daß das Tier authört, rotzverdächtig zu sein. Aus diesem Grunde liefert die Anwendung des Malleïns dem Praktiker oft keinen sicheren Anhaltspunkt bei der Diagnose der Rotzkrankheit, besonders bei den Einhufern.

Unter den zur Erleichterung der Diagnose bei rotzverdächtigen Tieren vorgeschlagenen Mitteln hat gewiß die experimentelle Prüfung, d. h. die Impfung von Meerschweinchen, Katzen, Hunden und Eseln mit von verdächtigen Tieren herstammendem Material (schleimiger Eiter, Sekrete von farcinösen Geschwüren, Emulsionen geschwollener Lymphdrüsen u. s. w.) die größte Bedeutung. Wenn man aber bedenkt, daß der Rotzbacillus bei den lebenden, an verstecktem Rotz leidenden Pferden schwer im Blute und in der keine Rotzknoten enthaltenden Milz nachweisbar ist (wie auch aus meinen zahlreichen Untersuchungen hervorgeht), und wenn man sich vorhält, daß die an verstecktem Rotz leidenden Pferde weder Nasenausfluß haben, noch bei einer äußeren Untersuchung sichtbare Geschwüre zeigen und ebensowenig geschwollene Lymphdrüsen, so kommt man leicht zu der Ueberzeugung, daß solche Probeimpfungen, die bei zur Verfügung stehendem passenden Material so große Bedeutung haben, dem diagnostischen Zwecke nicht entsprechen, wenn sie zur Erkennung von Fällen latenten Rotzes bei lebenden Pferden dienen sollen, von welchen das passende Impfmaterial (Lungentuberkel, peribronchiale Lymphdrüsen u. s. w.) schwer zu verschaffen ist.

Eine Probe, der man in diesen letzten Jahren eine gewisse Bedeudeutung zugeschrieben hat, um rotzverdächtige Krankheitsfälle zu erkennen, beruht auf dem Agglutinationsvermögen des Blutserums.

Seit fast einem Jahrzehnt weiß man, daß in dem Blute rotzkranker Tiere Agglutinine vorhanden sind, welche gegen den auf künstlichen Nährböden gezüchteten Rotzbacillus wirken. Mac Fadyean[1]) machte zuerst derartige Versuche, indem er ähnliche von Widal bei der Typhusinfektion des Menschen angestellte Untersuchungen den seinen zu Grunde legte. Bald darauf wiederholte Foulerton[2]) das Experiment mit dem Blutserum eines an Rotz erkrankten Mannes, wobei er auch Vergleiche mit dem Serum gesunder und an Diphtheritis und Typhus erkrankter Menschen anstellte. Wladimiroff[3]), der seine Studien über die Agglutination des Rotzbacillus im Jahre 1896 begonnen und sie später mit seinem Schüler Afanasieff fortgeführt hatte, kam zu dem Schlusse, daß das Blutserum eines normalen Pferdes schon bei einer Verdünnung von 1 : 300 eine Agglutinationskraft gegen den Rotzbacillus zeigt, und behauptete auch, daß das Serum rotziger Pferde sich in noch viel größerer Verdünnung wirksam erweist. Diese Tatsache, welche einen größeren Agglutiningehalt in dem Serum rotzkranker Pferde beweisen würde, ist auch von anderen Beobachtern bestätigt. Nur einige Forscher, wie Dediulin[4]), Nikolsky[5]), Jensen[6]), Petrowsky[7]) u. a. haben nach der Ansicht Wladimiroffs den Wert ihrer Untersuchungen über die Agglutinationskraft des Serums, wegen zu starker Konzentrierung desselben, illusorisch gemacht. Nach Wladimiroff und nach anderen modernen Forschern ist diese Untersuchungsmethode zur Erkennung des Rotzes von unbestreitbarer Wichtigkeit, jedoch kann sie nicht ohne weiteres dem Praktiker überantwortet werden, wie die Malleïnprüfung, besonders wenn der Forscher in der Laboratoriumstechnik nicht völlig eingeübt ist. Wenn auch solche Agglutinationsproben des Serums tatsächlich mit toten Bacillen ausführbar sind, wobei man leicht zu auch

---

1) Mac Fadyean, Preliminary note on serodiagnosis of glanders. (Journ. comp. pathol. and therap. Vol. IX. 1896.)

2) Foulerton, On serumdiagnosis in glanders. (Lancet. 1897.)

3) Wladimiroff, Sur le phénomène d'agglutination dans la morve. (Recueil de méd. vétérin. 1897 et 1903.)

4) Dediulin, Zur Rotzdiagnose. (Arch. f. Veter.-Wissensch. 1899.) [Russisch.] — Zur Serumdiagnose beim Rotz. (Bote f. öffentl. Veter.-Wissensch. 1900. [Russisch.]

5) Nikolsky, W., Bedeutung der Serumdiagnose beim Rotz. (Arch. f. Veter.-Wissensch. 1900.)

6) Jensen, C. O., Ueber die Serumagglutination. (Maanedsskrift for Dyrlaeger. 1901.)

7) Petrowsky, A., Natürliche Rotzinfektion bei Kamelen. (Bote f. öffentl. Veter.-Wissensch. 1900.) [Russisch.] — Malleus Kameli. (Arch. f. Veter.-Wissensch. 1903.) [Russisch.]

mit bloßem Auge sichtbaren Resultaten gelangt, dürfen dem Forscher nichtsdestoweniger die feinsten technischen Operationen nicht unbekannt sein, die zur genauen Titrierung des Serums erforderlich sind. Auch können die Resultate der makroskopischen Serumprüfung die mikroskopischen Ergebnisse bei der Demonstration des feinen Phänomens nicht ersetzen.

Eigene Versuche.

Infolge eines mir von der Generaldirektion des Sanitätsamtes des kgl. Ministeriums des Inneren erteilten Auftrages bin ich seit ungefähr anderthalb Jahren beschäftigt, bei Pferden, welche nur die Malleïnreaktion zeigen, ohne irgend ein anderes klinisches Rotzsymptom aufzuweisen, den latenten Rotz und seine Kontagiosität zu studieren.

Da ich in diesem langen Zeitraume meiner Studien sechs Pferde zur Verfügung hatte, deren einige ich durch eine besondere Methode infizierte, bei der die Tiere beständig auf Malleïn reagierten, ohne durch viele Monate hindurch die klassische Symptomatologie der Krankheit zu zeigen, und da ich viele andere kleine Laboratoriumstiere (Meerschweinchen und Katzen) zum Zwecke des Studiums infizieren mußte, so hatte ich gute Gelegenheit, zahlreiche Beobachtungen über das Agglutinations- und Präzipitationsvermögen des Blutserums verschiedener, an mehr oder minder verstecktem Rotz leidender Tiere, im Vergleiche mit dem mit dem Agglutinin- und Präzipitingehalte des Serums derselben Species im normalen Zustande, auszuführen.

Bei den zahlreichen von mir über die Agglutinationskraft des Serums angestellten Versuchen habe ich ein doppeltes technisches Verfahren befolgt: d. h. ich untersuchte einerseits die agglutinierende Wirkung des Serums auf Aufschwemmungen von durch Hitze getöteten und in einer schwach mit Phenol versetzten physiologischen Kochsalzlösung gehaltenen Rotzbacillen und andererseits dieselbe agglutinierende Kraft des diluierten Serums auf lebende, aus frischen, 3 Tage alten Bouillonkulturen entnommenen Rotzbacillen.

Diese beiden Methoden können nicht als so vollkommen angesehen werden, daß sie manchmal mögliche Fehler ausschließen. Mit der Uebung, die man bei der häufigen Wiederholung solcher mikroskopischen Prüfungen des agglutinierenden Serums auf die Bacillen erwirbt, indem man stets dieselben technischen Details verfolgt, ist es mir immerhin gelungen, die leicht zu begehenden Fehler zu vermeiden und vergleichende, hinreichend genaue Werte zu erhalten.

Die von mir bei der makroskopischen Prüfung verfolgte Methode ist gerade die neuerdings von Kleine[1]) für die toten Rotzbacillen vorgeschlagene. Diese Methode gibt ziemlich gute Resultate, wenn die Verdünnungen des zu prüfenden Serums nicht zu stark sind; wenn dieselben aber so stark sind, daß sie ungefähr den wirklichen Titel des Agglutinationsvermögens annähernd erreichen, so gelingt es nicht, mit hinreichender Sicherheit den Transparenzunterschied zwischen der Testflüssigkeit und der Flüssigkeit, welche die größte Verdünnung des agglutinierenden Serums enthält, festzustellen.

Ein sichereres Kriterium liefert hingegen die Prüfung mit lebenden Bacillen, indem man das verdünnte Blutserum auf frische Bouillonkulturen von Rotzbacillen wirken läßt. Zur Ausführung dieser Probe, die ich im hängenden Tropfen ausführte, bediente ich mich eines sehr guten apochromatischen Objektivsystems (2 mm) von Zeiss. Ich wandte 3-tägige Bouillonkulturen an, so daß die Menge der vermehrten Bacillen nicht zu groß und am Boden der Eprouvetten kein flockiges Sediment gebildet war.

---

[1]) Kleine, E. K., Ueber Rotz. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903.)

Die miteinander in Berührung kommende Menge von Bouillonkultur und Blutserum wurde mit von mir selbst graduierten Pipetten genau gemessen, so daß bei der stets gleichen Neigung derselben die Tropfen immer gleich groß resultierten. Der verwendete Bacillus rührte immer von demselben Stamme her und die Nährböden waren immer in derselben Weise präpariert. Die einzelnen Beobachtungen wurden von 20 bis 30 Minuten bis auf 22—24 Stunden ausgedehnt. Eine Zeitdauer von 18—24 Stunden, um sich von einem gegebenen Resultat zu überzeugen, ist nicht nur bei den makroskopischen, sondern auch bei den mikroskopischen Proben vorteilhaft, besonders wenn innerhalb der ersten halben Stunde bei den starken Verdünnungen (1 : 500—1 : 800) die Bildung der Klümpchen agglutinierter Bacillen gering und unentschieden ist.

Um mir einen möglichst genauen Einblick in die Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutserums einiger Tiere während der Rotzinfektion zu verschaffen, lenkte ich zuerst meine Beobachtungen auf das Serum von im normalen Zustande befindlichen Tieren derselben Species. — Unter den Tieren, bei denen ich die Agglutinationskraft gegenüber dem Rotzbacillus studierte, befinden sich in erster Linie die, welche gegenüber dem Rotzvirus die größte Empfindlichkeit zeigen, wie z. B. Einhufer (Pferd, Esel), Katzen und einige Nagetiere (Meerschweinchen).

Es waren 6 normale Pferde, deren Agglutinationskraft ich studieren konnte.

Die Resultate der verschiedenen Untersuchungen zeigten, daß manchmal individuelle und ziemlich fühlbare Unterschiede vorkommen. Bei einigen gesunden Pferden schwankt die Agglutinationskraft von 1 : 60 bis 1 : 115, bei anderen von 1 : 115 bis 1 : 170 oder auch bis 1 : 230. Solche Daten beziehen sich auf die mikroskopische Reaktion auf lebende Bacillen. Die makroskopische Reaktion, welche mit einer bei 60° stundenlang abgetöteter Bacillen hergestellten Aufschwemmung vorgenommen wurde, zeigte sich nicht so empfindlich und gab Resultate, die von 1 : 50 bis 1 : 150 schwankten. Sowohl diese bei der makroskopischen als die bei der mikroskopischen Prüfung erhaltenen Zahlen bleiben etwas unter denen von Fedorowsky[1]), der die Agglutinationskraft beim normalen Pferde zwischen 1 : 300 bis 1 : 500 annimmt. Wahrscheinlich sind diese Unterschiede nicht so sehr den Fehlern bei der Titrierung der Mischungen zuzuschreiben als hingegen und vielleicht hauptsächlich dem gebrauchten Kriterium, um den Grenzwert der Agglutinationskraft zu bestimmen.

Das Vorkommen einiger spärlicher Bacillenklümpchen in dem hängenden Tropfen der untersuchten Mischungen wurde von mir nicht für einen sicheren Beweis zur Beurteilung des vorgenannten Grenzwertes gehalten; hingegen habe ich meine Ansicht über diesen Grenzwert nicht nur auf das Vorhandensein einer geringen Zahl Bacillenklümpchen, sondern auch auf ihre Unbeweglichkeit, auf die Schwellung derselben und ihr granulöses Aussehen stützen wollen.

---

[1]) Fedorowsky, Zur Agglutination der Rotzmikroben etc. [Dissert.] Jurieff 1902. [Russisch.]

Beim Serum eines gesunden, jungen Esels wurde die Agglutinationskraft des Blutserums gegen den Rotzbacillus von mir schwächer als beim Pferde gefunden, d. h. sie schwankte von 1 : 70 bis 1 : 90. Bei gesunden Katzen und Meerschweinchen ist die Agglutinationskraft gewöhnlich sehr gering, d. h. 1 : 20 bis 1 : 40.

Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes während der Rotzinfektion.

Nach Feststellung der obenerwähnten Daten in Bezug auf die Agglutinationskraft des Serums gesunder Tiere gegenüber dem Rotzbacillus führte ich eine lange Reihe Beobachtungen über die Schwankungen der Agglutination während des Rotzes aus. Der größere Teil dieser Beobachtungen vollzog sich bei an experimentell rotzkrank gemachten Pferden, deren einige nur die latente Form der Krankheit zeigten. Andere Beobachtungen machte ich bei Katzen und Meerschweinchen in verschiedenen Krankheitsstadien.

Die erste Frage, die ich mir vorlegte, bezog sich auf die Bestimmung, wann nach Einführung des Rotzvirus in den Körper des Pferdes, der Katze oder des Meerschweinchens die erste Zunahme der agglutinierenden Eigenschaft des Serums sich zeigte. Diese Frage, der eine gewisse Bedeutung beim Studium des Verlaufes des experimentellen Rotzes zukommt, hat, wie leicht begreiflich, keine beim spontanen Rotz. Die diesem Zwecke dienenden Versuche wurden an 3 Pferden vorgenommen, von denen 2 mit frischen, wirksamen, auf normalen gastrointestinalen Wegen eingeführten Rotzkulturen infiziert wurden. Dem dritten wurde eine Agarkultur auf die kruentierte Nasenschleimhaut eingerieben. Ich bemerkte bei diesen 3 Tieren, daß die agglutinierende Reaktion nicht in demselben Zeitraume nach der Ansteckung zunahm. Diese zeigte sich zuerst beim durch die Nasenschleimhaut infizierten Pferde und trat schnell 2 Tage später ein. In der Tat bemerkte ich beim Pferde „Gigante“, dessen Blut vor der Infektion ein Maximum an Agglutinationskraft von 1 : 170 besaß, 2 Tage nach der Ansteckung durch die Nasenschleimhaut, währenddem eine große, ödematöse Schwellung der ganzen Schleimhaut und eine schmerzhafte Schwellung der intermaxillären Lymphdrüsen eingetreten waren, eine Zunahme des Agglutinationsvermögens bis zu 1 : 300, und 8 Tage später, als ein reichlicher, eiterig-schleimiger, bacillenhaltiger Ausfluß aus den Nüstern und ein großes Geschwür auf dem Nasenseptum an der Inokulationsstelle sich vorfand und auch die schmerzhafte Schwellung der intermaxillären Lymphdrüsen andauerte, war die Agglutinationskraft des Blutserums auf 1 : 460 gestiegen (mikroskopische Reaktion auf lebende Bacillen). 21 Tage nach der Infektion erhielt ich eine starke Malleïnreaktion, und die Agglutinationskraft des Serums war ungefähr 1 : 300 bis 1 : 350 (mikroskopische und makroskopische Reaktion). Die Agglutinationszunahme bis 1 : 460 erhielt sich nicht nur durch die ganze Zeit des schweren Erkrankungsstadiums des Tieres, während dessen es starke Malleïnreaktion zeigte ($2^1/_2$—3 cg), sondern sie erhielt sich auch später, als es fast genesen schien.

Bei den zwei anderen Pferden „Estimo“ und „Ceva“, bei denen ich die experimentelle Infektion durch Einführung von wirksamen Rotzkulturen in die normalen Verdauungswege vorgenommen hatte, indem ich, um das Eindringen des Infektionsmaterials in die hinteren Nasenwege durch die Choanen zu vermeiden, aus einem indifferenten Teige hergestellte große Pillen, innerhalb welcher eine mit Agarkultur ausgefüllte Höhlung sich fand, verschlucken ließ, war das Verhalten der Agglutinationsreaktion des Serums etwas verschieden.

Bei diesen zwei Pferden erhöhte sich das Agglutinationsvermögen nicht so schnell, wahrscheinlich weil erstens die Einführung des infektiösen Materials nicht auf die Oberfläche der künstlich verwundeten Schleimhäute, wie beim vorhergenannten Falle, vorgenommen wurde, sondern auf die Oberfläche gesunder Schleimhäute, und zweitens, weil die Ansteckung auf gegen Rotzvirus minder empfindliches Gewebe und bei Einfluß der wenn auch schwach wirkenden Verdauungssäfte geschah.

Bei einem dieser zwei Pferde, beim „Estimo", das schwerer mit einer auf 2mal im Abstand von 2 Monaten[1]) in größerer Menge verschluckten Kultur infiziert wurde, erhöhte sich das Agglutinationsvermögen des Blutes von 1 : 230 auf 1 : 350 und stieg schließlich auf 1 : 550 (mikroskopische Reaktionen auf lebende Bacillen).

Beim anderen dieser Tiere, bei der Stute „Ceva", welche durch die Verdaungswege, aber mit geringerer Menge von Rotzkulturen, infiziert wurde, trat die Erhöhung der Agglutinationskraft 50 Tage nach der ersten Infektion ein, wobei der Agglutinationstitel von 1 : 115, was dem Normaltitel entsprach, bis 1 : 300 stieg. Infolge einer zweiten, ebenfalls auf dem Verdauungswege vorgenommenen Infektion kam eine schnelle Zunahme der Agglutinationskraft von 1 : 600 bis 1 : 1035 zum Vorschein, die Ende Juli 1904 ein Maximum von 1 : 1104 erreichte.

Auf Grund solcher von mir bei diesen 3 Pferden vielmals mit größter Sorgfalt wiederholten Beobachtungen des Agglutinationsvermögens konnte man zu dem Schlusse gelangen, daß *die Agglutinationskraft des Blutserums gegenüber dem Rotzbacillus beim experimentellen Rotz der Pferde sich bedeutend erhöht und daß solche Zunahme schneller auftritt, wenn die Ansteckung durch die verwundete Nasenschleimhaut geschieht, weniger rasch dagegen bei der Infektion durch die normalen Verdauungswege.*

Die Zunahme der Agglutinationskraft des Blutes gegenüber dem Rotzbacillus kommt gewöhnlich beim Auftreten des Fiebers zum Vorschein und fällt mit der Malleïnreaktion zusammen. Der Zeitraum, in dem solche Erhöhung des Agglutinationsvermögens sich zeigt, beträgt einen Monat, oder etwas mehr, wenn die Ansteckung durch die Verdauungswege erfolgte, hingegen ist er von wenigen Tagen, wenn die Infektion durch die verwundete Nasenschleimhaut geschehen ist.

Zu Kontrollzwecken verfolgte ich das Verhalten der agglutinierenden Reaktion bei zwei anderen ganz gesunden Pferden „Dandolo" und „Chiari", welche, ohne früher Malleïnreaktion zu zeigen, mit den beiden experimentell mit Rotzkulturen durch die Verdauungswege infizierten Pferden „Estimo" und „Ceva" ganz nahe beieinander gehalten wurden;

---

1) Der Wallach „Estimo" wurde das erste Mal am 28. Dezember 1903 durch Verschlucken von 3 Pillen infiziert, in deren ganz geschlossener zentraler Aushöhlung der ausgekratzte Brei von in 6 Petri-Schalen enthaltenen Agarkulturen eingeschlossen war. Nach 3 Tagen wurde das Tier von einem heftigen Fieber befallen, welches ein Maximum von 40,4° erreichte und $2^1/_2$ Tage dauerte. Während dieser Periode war das Tier sehr abgeschlagen und fraß wenig. — Am 2. März 1904, d. h. 63 Tage nachher, befand sich das Pferd ziemlich wohl und wurden ihm dann neuerdings 2 Pillen, die den Brei von 5 Petri-Schalen Agarkulturen enthielten, in den Schlund eingeführt. Das Tier reagiert am 4. Tage mit einer thermischen Erhöhung auf 39,4°. Das Fieber dauert 2 Tage.

und die gemeinschaftliche Lebensführung wurde besonders während eines langen Zeitraums eingehalten, in dem die infizierten Tiere an latentem Rotz litten. Man sorgte dafür, daß diese zwei ganz gesunden Pferde im Stalle neben den zwei an latentem Rotz erkrankten ihren Stand erhielten und daß das Futter aus demselben gemeinsamen Trog gefressen und aus demselben Eimer gesoffen wurde. Bei einem dieser Pferde, dem „Dandolo“, erreichte die Agglutinationskraft nach fast 5 Monaten gemeinschaftlichen Lebens mit dem durch die Verdauungswege infizierten Pferde „Estimo“ ein Maximum von 1 : 1380, während vor dem Zusammensein mit dem infizierten Pferde seine Agglutinationskraft ungefähr 1 : 200 betrug. Obwohl sich beim „Dandolo“ keinerlei ausgesprochenes Anzeichen von Rotzkrankheit zeigte, und es nur auf Malleïn ($2^1/_2$ ° oder wenig mehr) reagierte und, ohne zur Arbeit angehalten zu sein, auch abgemagert war und hin und wieder ohne sichtbaren Grund fieberte, wurde das Tier am 23. Juli 1904 getötet.

Bei der Sektion fand sich keine der charakteristischen Veränderungen der Rotzkrankheit; nur fand ich in den Lungen sehr spärliche graue, nadelkopfgroße, harte, halbtransparente Tuberkel, die von keinem hämorrhagischen Hofe umgeben waren. Neben diesen Tuberkeln, die nicht rotziger Natur waren, sah ich hier und da einige weiche, grauweiße, kürzlich entstandene bronchopneumonische Herde, die besonders an der Basis beider Lungen verstreut waren. — Die peritrachealen und peribronchialen Lymphdrüsen waren stark geschwollen und zusammengewachsen, so daß sie hühnereigroße, homogene Massen von an der Schnittfläche speckigem Aussehen bildeten. Sowohl diese bronchopneumonischen Herde als auch diese hyperplastischen, peritrachealen und peribronchialen Lymphadeniten konnte man bei einer am Sektionstisch vorgenommenen ersten Untersuchung für nicht rotziger Natur halten, da das charakteristische käsig-eiterige Aussehen, welches gewöhnlich bei lange an Rotz leidenden Pferden sich findet, fehlte. — Es war nur nach sorgfältiger bakteriologischer Untersuchung dieser bronchopneumonischen Herde und der hyperplastischen Lymphdrüsen und besonders infolge der wiederholten Impfungen mit Ganglienemulsionen bei Meerschweinchen und Katzen möglich, die rotzige Natur dieser Lymphadeniten und dieser bronchopneumonischen Herde festzustellen. Es blieb also kein Zweifel mehr, daß das Pferd „Danolo“ rotzig geworden war und zwar infolge seines Zusammenlebens mit dem anderen Pferde „Estimo“, das, von uns auf dem Verdauungswege infiziert, an latentem Rotz litt, also weder Nasenfluß noch -Geschwüre noch Schwellungen der intermaxillären Lymphdrüsen zeigte und von Zeit zu Zeit spontanen, kurzdauernden Fieberanfällen ausgesetzt und dabei etwas abgemagert war.

Bei diesem Pferde, bei dem ich die Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes von völliger Gesundheit an bis zum Zustande verdächtiger Infektion ganz gut verfolgen konnte, hätte die serodiagnostische Prüfung keine besseren Resultate geben können, da sie durch die bakteriologische Untersuchung der bei der Sektion entnommenen Gewebestücke vollauf bekräftigt wurde.

Auf Grund solcher Resultate kommt man zu dem Schlusse, daß der Erhöhung der Agglutinationskraft des Blutserums bei einem Pferde, das wegen der malleïnischen Reaktion und wegen anderer Umstände als rotzverdächtig angesehen werden kann, ein unzweifelhafter Wert bei der Diagnose der Rotzinfektion zuzuschreiben sei.

Beim anderen Pferd „Chiari“, das ebenfalls lange Zeit (ungefähr 5 Monate) mit dem „Estimo“ und mit dem anderen „Ceva“ zusammengehalten wurde, begannen die ersten spontanen Fieberanfälle ungefähr einen Monat später. Nach 3 Monaten auf Malleinreaktion geprüft, zeigte es Temperaturerhöhung von $2^3/_{10}$ Centigrad, d. h. von 37,5—39,8°. Bei diesem Tiere stieg die Agglutinationskraft des Blutserums von 1 : 115 bis 1 : 345 in der Periode zwischen August und November 1904. Im Dezember 1904 schwankte das Agglutinationsvermögen zwischen 1 : 340 bis 1 : 460 und war während der Malleïnreaktion noch höher, indem es das Verhältnis von 1 : 600 bis 1 : 750 erreichte. Im Dezember vorigen Jahres und im folgenden Januar war das Pferd sehr abgemagert und atmete unregelmäßig, es fieberte aber nicht, reagierte jedoch auf Malleïn mit ungefähr 2 Centigraden (39,3—39,5°). Am 25. Januar wurde das Tier getötet. Das kurz vor dem Schlagen entnommene Blut agglutinierte im Verhältnis von 1 : 500. Die Sektion ließ die Anwesenheit eines fibrinösen, nicht kürzlich entstandenen Exsudates auf der Pleura der unteren linken Lunge, auf der diaphragmatischen Pleura und auf dem Mediastinum anterior zutage treten. An einigen Stellen der Lungenpleura war das Exsudat mit darunterliegendem Bindegewebe zusammengewachsen; dagegen bedeckte es, besonders dem Diaphragma und dem Mediastinum entsprechend, ein weiches, grauweißes Granulationsgewebe. Die linke Lunge zeigte hier und da gelbe, käsige, höchstens erbsengroße Tuberkel und auch graue, halbtransparente, nicht von hämorrhagischen Höfen umgebene, kleinere Tuberkel. Auch in der rechten Lunge fanden sich solche Tuberkel, jedoch viel seltener. Der Larynx war normal sowie die Trachea; die peritrachealen Lymphdrüsen etwas vergrößert und weich. Leber, Niere und Verdauungswege normal, ebenfalls die Nasenschleimhaut und die intermaxillären Lymphdrüsen.

Die direkt auf diese pathologischen Produkte ausgeführte bakteriologische und kulturelle Untersuchung gab bezüglich der Gegenwart des Rotzbacillus ein positives Resultat.

Einige Katzen und Meerschweinchen, die mit Emulsionen von peribronchialen Lymphdrüsen geimpft worden waren, starben an Rotz.

Bei anderen kranken oder normalen Tieren erhielt ich folgende Ergebnisse. Bei einem normalen Esel zeigte das Blutserum ein nicht über 1 : 90 bis 1 : 100 hinausgehendes Agglutinationsvermögen. Während einer langen Immunisationsperiode, in der diesem Tier öfter Injektionen von durch Erhitzung auf 60 oder 65° getöteten Rotzkulturen gemacht wurden, erhöhte sich die Agglutinationskraft des Blutserums von 1 : 90 bis 1 : 230, und während eines sehr rasch und tödlich verlaufenden Rotzes, der wegen einer Einspritzung von nicht genügend erhitzter resp. abgetöteter Kultur eingetreten war, nahm das Agglutinationsvermögen des Blutes bis 1 : 345 zu.

Bei normalen Meerschweinchen schwankt die Agglutinationskraft des Blutserums gegenüber dem Rotzbacillus zwischen 1 : 23 bis 1 : 30. — Das während der stärksten, tödlich verlaufenen Rotzansteckung entnommene Blut, als das Tier die typische Rotzorchitis aufwies, zeigte keine Vermehrung seiner Agglutinationsfähigkeit.

Auch bei der Katze habe ich einen ähnlichen Befund erhalten: in verschiedenen dieser rotzigen Tiere, denen ich das Blut kurz vor dem Tode entnahm, zeigte das oft hämoglobinhaltige, abgeschiedene Serum keine Zunahme der Agglutinationskraft, die zwischen 1 : 25 bis 1 : 50 schwankte. Eine tatsächliche Zunahme der Agglutinationskraft des

Serums der rotzkranken Katzen bis 1 : 200 bemerkte ich nur in wenigen Fällen (2mal bei 10 rotzkranken Katzen).

Diese vielmals mit großer Sorgfalt ausgeführten Beobachtungen beweisen, wie die Agglutinationskraft des Blutes gegenüber dem Rotzbacillus sich nicht wie bei allen für den Rotzbacillus empfindlichen Tieren in gleicher Weise verhält. Während tatsächlich bei den Einhufern im Verlaufe der Rotzkrankheit die agglutinierende Reaktion des Blutes merkbar zunimmt, so daß sie zur Erkennung des latenten Rotzes sich eignet, erhöht sich das Agglutinationsvermögen bei anderen Tieren, wie bei den von Natur aus gegen Rotz sehr empfindlichen Katzen und Meerschweinchen, während des experimentellen Rotzes durchaus nicht. Solche von mir vielmals beobachteten Tatsachen würden also die Resultate von **Fedorowsky** nicht bestätigen.

Veränderung der Agglutination während der Malleïnreaktion.

Es ist bekannt, daß während der durch Proteïne und andere lösliche Toxine des Rotzbacillus hervorgerufenen Vergiftung die Agglutinationskraft des Blutes gegenüber dem Rotzbacillus fühlbar zunimmt. Eine solche Erscheinung wurde schon von **Arpád**[1]) beim gesunden Pferde und von **Fedorowsky**[2]) beim Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde bemerkt. Auch bei rotzkranken Pferden wurde von **Pokschischewsky**[3]) das Gleiche beobachtet, und **Kleine**[4]) hat nachgewiesen, daß die Agglutinationskraft des Blutes bei gegen Rotz immunisierten Eseln und Ziegen bis 1 : 300 ansteigen kann und sogar in einzelnen sehr seltenen Fällen bis auf 1 : 20000. — Man glaubt jedoch, daß diese Verstärkung der Agglutinationskraft des Blutserums gegenüber dem Rotzbacillus während der Malleïnvergiftung keine dauernde, sondern nur eine vorübergehende sei. Nach **Arpád** kehrt die Agglutinationskraft des Blutes bei malleïnisierten Pferden in wenigen Wochen bis auf das Normale zurück.

Nachdem die bis jetzt erhaltenen positiven Resultate bezüglich dieser interessanten Frage, die man als höchst aktuell ansehen kann, nur spärlich sind und da man auch mit gegen den Rotzvirus unempfindlichen Tieren (Hühnern) oder mit solchen, die wegen ihrer geringen Empfindlichkeit keine beständigen und sicheren Resultate geben konnten, experimentiert hatte, so unternahm ich eine Versuchsreihe, um das Verhalten des Agglutinationsvermögens des Blutserums bei Pferden während der Malleïnvergiftung zu studieren. Beim gesunden Pferde ruft die Malleïnvergiftung keine merkbare Veränderung der Agglutinationskraft des Blutes gegenüber dem Rotzbacillus hervor, wenn diese Vergiftung nur einmal oder höchstens wenige Male in langen Zeiträumen vorgenommen wird. Die bei einigen Tieren (Eseln, Ziegen) beobachtete Zunahme des Agglutinationsvermögens des Blutserums nach wiederholten Einführungen von Rotzproteïnen und Toxinen sind tatsächlich von der von **Kleine** mittels Immunisation erhaltenen Erhöhung nicht unterscheidbar. Beim

---

1) **Arpád, Julius**, Beitrag zur Agglutination des Rotzbacillus. (Veterinarius. Bd. XXV.) [Ungarisch.]

2) **Fedorowsky**, Zur Agglutination der Rotzmikroben etc. [Dissertation.] Jurieff 1902.

3) **Pokschischewsky**, Agglutination als diagnostische Methode für Rotz. (Arch. russ. de pathol. T. XII. 1901.)

4) **Kleine, E. K.**, Ueber Rotz. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.)

rotzkranken oder verdächtigen Pferde erzeugt die Malleïnvergiftung fast immer — die Fälle, wo die Tiere vielleicht wegen zu häufiger Malleïninjektion oder wegen erfolgter Genesung zu reagieren aufhörten, ausgenommen — eine thermische Erhöhung und die sogenannte organische Reaktion, die sich, wie bekannt, in einer allgemeinen Ermattung, verweigerter Nahrungsaufnahme, Schweiß und ödematöser, schmerzhafter Anschwellung des subkutanen Bindegewebes an der Stelle der Einspritzung ausdrückt.

Während dieser Malleïnreaktion untersuchte ich mehrmals das agglutinierende Verhalten des Blutserums sowohl bei gesunden als auch bei verstecktem Rotz und bei an sehr ausgeprägtem Rotz leidenden Pferden. Die erhaltenen Resultate zeigten gewöhnlich, daß die Malleinvergiftung beim rotzkranken Pferde die Zunahme des Agglutinationsvermögens des Blutserums veranlaßt. Diese Erhöhung ist jedoch vorübergehend, schwankt je nach den Tieren, dauert nicht länger als 5—7 Tage nach der Malleïnisation und steht mit der Intensität der thermischen Reaktion nicht immer im Verhältnis.

In der Tat zeigte das Agglutinationsvermögen bei einigen von mir experimentell sowohl durch die verwundete Nasenschleimhaut als auch durch die normalen Verdauungswege infizierten Pferde, obwohl man nach 3 Wochen eine thermische Malleïnreaktion bis 40,6° = 3 Centigrade über die Norm bemerkte, keine Erhöhung, die viel bedeutender gewesen wäre als jene der ersten Tage nach der Infektion, d. h. es schwankte von 1 : 230 bis 1 : 250.

Beim an verstecktem Rotz leidenden Wallach „Dandolo“ dagegen, dessen Nachweis nur durch die bakteriologische Untersuchung der weichen und geschwollenen peribronchialen Lymphdrüsen erfolgen konnte, war die Agglutinationskraft des Blutes während der in den letzten 3 Tagen vor der Tötung vorgenommenen Malleïnisation von 1 : 700 bis 1 : 1380 gestiegen.

Obwohl die Malleïnvergiftung bei rotzkranken Pferden eine kurzdauernde Zunahme des Agglutinationsvermögens des Blutserums gegenüber dem Rotzbacillus hervorruft, steht doch diese Erhöhung nicht ganz im Verhältnis zu der Stärke der thermischen und organischen, durch Malleïnisation erzeugten Reaktion.

Zur Bestätigung dieser auf die Resultate meiner experimentellen Beobachtungen sich stützenden Behauptung dient die Tatsache, daß eine gewisse Zunahme der Agglutinationskraft des Blutserums während der Malleïnisation auch bei nicht mehr mit Hyperthermie, sondern nur mit einer schmerzhaften ödematösen Schwellung an der Injektionsstelle reagierenden Pferde (ceased reactor) zum Vorschein kommt.

Bei einigen dieser nicht mehr reagierenden Pferde erhält sich das Agglutinationsvermögen des Blutserums manchmal ziemlich hoch und steigt, wenn auch wenig, während der Malleïnisation noch an, obwohl diese nur eine leichte organische Reaktion hervorruft.

Dieser Zunahme der Agglutinationskraft, die bei den rotzverdächtigen Pferden während der Malleïnreaktion eintritt, kommt ein diagnostischer Wert von hoher Bedeutung zu, wenn man bedenkt, daß die Malleïnreaktion kein absolut sicheres Mittel ist, um die Krankheitsdiagnose festzustellen, und wenn man sich vor Augen hält, daß bei einer gewissen Zahl rotzverdächtiger Pferde die thermische Reaktion auf Malleïn nach einer Reihe von bei demselben

Tiere in verhältnismäßig kurzen Zwischenräumen vorgenommenen Injektionen sich bis zum Verschwinden abschwächt.

Zu dieser Schlußfolgerung gelange ich durch meine lange Zeit ausgeführten Beobachtungen, die ich über ein Jahr bei an verstecktem oder ausgeprägtem Rotz leidenden Pferden anstellen konnte, von denen einige eine bestimmte, andere gar keine thermische Reaktion auf die Malleïnreaktion gaben.

Abnahme des Agglutinationsvermögens des Serums bei den rotzkranken Pferden und ihre Erklärung.

Gibt uns das Agglutinationsvermögen des Blutserums in gewissen Fällen ein vortreffliches Mittel zur Stellung der Rotzdiagnose beim Pferde in die Hand, besonders wenn die Krankheit noch nicht die klinischen gut ausgeprägten Erscheinungen erreicht hat und besonders wenn diese Zunahme des Agglutinationsvermögens sich vorübergehend während der Malleïnisation noch verstärkt, so kann man doch nicht behaupten, daß einem solchen diagnostischen Mittel wirklich in allen Fällen ein besonderer Wert zukommt. Zu diesem Schlusse führten mich einige Beobachtungen an von mir mit Rotzkulturen infizierten Pferden, bei denen die Agglutinationsprüfung mehrmals in den verschiedenen Krankheitsperioden wiederholt wurden.

Aus diesen Beobachtungen ging hervor, daß die Agglutinationskraft des Blutes bei den rotzkranken oder rotzverdächtigen Pferden sich ähnlich wie die Reaktion auf Malleïn verhalten kann. Nach dem Erreichen eines gewissen, nicht immer der Schwere der pathologisch-anatomischen Veränderungen entsprechenden äußersten Höhegrades kann sie sich bis zur Norm abschwächen, d. h. fast bis zu dem Grade, den es vor begonnener Infektion besaß.

Diese Tatsache beobachtete ich nicht nur bei auf dem normalen Verdauungswege mit frischen Rotzkulturen infizierten Pferden, die ins letzte Krankheitsstadium eingetreten waren, nachdem sie vorher eine ziemlich lange Periode von 7—8 Monaten latenten Rotzes durchgemacht hatten und dann die ausgeprägtesten Krankheitssymptome, wie: schleimig-eiterigen Nasenausfluß, Schwellung der intermaxillären Lymphdrüsen, Geschwüre der Nasenschleimhaut, Rotzarthritiden, verstreute Eiterherde in dem Unterhautbindegewebe und in den Sehnenscheiden u. s. w. zeigten und bei denen die unternommene Sektion die schwersten Lokalisationen der Rotzkrankheit in den Luftwegen klarstellte, sondern auch bei einigen Pferden, die, trotzdem sie experimentell mit Rotzkulturen infiziert worden waren oder sich durch langes Zusammenleben mit anderen an latentem Rotz leidenden Pferden und durch Saufen und Fressen aus gemeinsamen Gefäßen spontan infiziert hatten, sich ziemlich gut befanden, d. h. keine Krankheitserscheinungen zeigten und in hinreichend gutem Ernährungszustande waren, später aber rotzkrank wurden („Dandolo“ und „Chiari“).

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat.

Von **G. Wesenberg**, Elberfeld.

Unter der großen Auswahl von Desinfektionsmitteln haben die Kresolpräparate sich einen festen Platz zu erringen vermocht, und zwar sind es besonders die Kresolseifenpräparate, welche sich einer großen Beliebtheit erfreuen. Diese bestehen bekanntlich aus Gemischen von gleichen Gewichtsteilen Rohkresol und Kaliseife, welch letztere aber wohl meist durch die bedeutend billigere sogenannte grüne oder Schmierseife ersetzt werden dürfte. Beide Komponenten sind aber — da selbst wieder keineswegs einheitliche, wohlcharakterisierte Körper, sondern Gemenge — von stark wechselnder Zusammensetzung; das Rohkresol ist ein Gemisch der 3 verschieden stark desinfizierend wirkenden Kresolen, des Ortho-, Meta- und Parakresols; daneben enthält es meist noch nicht unbeträchtliche Mengen weiterer homologer Phenole und von so gut wie völlig unwirksamen Bestandteilen, aromatischen Kohlenwasserstoffen etc. Die chemische Untersuchung des Rohkresols, namentlich die quantitative Bestimmung seiner Komponenten, ist umständlich und ziemlich schwierig, wird daher in den meisten Fällen wohl unterbleiben; die Prüfung der fertigen Kresolseifenlösung gestaltet sich noch entsprechend komplizierter, wie aus den verschiedenen zur Untersuchung vorgeschlagenen Vorschriften hervorgeht. Ueber die Verschiedenheit der „Schmierseife“ des Handels kann jede aufmerksame Hausfrau Auskunft geben, da ja die Verwendung von sogenannten Füllmitteln (Wasserglas, Kartoffelmehl etc.) ein beliebter Kunstgriff ist, die Seife vollgehaltlich erscheinen zu lassen, während sie in Wirklichkeit nur verhältnismäßig wenig Seife und viel Wasser enthält. Daß unter diesen Umständen die Desinfektionswirkung der dem Handel entnommenen (aus Apotheken, Großdrogengeschäften etc.) Kresolseifenlösungen eine außerordentlich schwankende ist, indem neben ausgezeichnet wirkenden Präparaten solche von geringerer Wirkung anzutreffen sind, ist von vornherein anzunehme nund dann auch von den verschiedenen Untersuchern [Fischer und Koske[1]), Uebelmesser[2]) und Fehrs[3])] durch Desinfektionsversuche nachgewiesen worden.

Zu dem ebenerwähnten Uebelstande der schwer kontrollierbaren, schwankenden und daher unzuverlässigen Zusammensetzung der Kresolseifenlösungen kommen noch die Nachteile hinzu, welche alle Desinfektionsmittel in flüssiger Form besitzen: schlechte und ungenaue Dosierung, für den Arzt die Gefahr des Gefäßbruches unterwegs und damit bedingte Verunreinigung der Instrumententasche etc., welch letztere bei einem festen Mittel lange nicht so unangenehm ist. Ein Kresolpräparat in fester Form wird daher dem Arzte in vielen Fällen sehr willkommen sein.

Durch Herrn Dr. Gentsch wurde mir nun Gelegenheit geboten, eine Anzahl fester Phenol- bezw. Kresolpräparate, deren Herstellung nach patentiertem Verfahren erfolgt, zu untersuchen; es sind dies Doppelverbindungen des Phenols bezw. der Kresole mit den entsprechenden Alkalisalzen derselben; den Kaliumverbindungen kommen die folgenden Formeln zu: für das Phenol $3\,C_6H_5 \cdot OH + C_6H_5 \cdot OK$; für die verschiedenen Kresole $3\,C_6H_4{<}^{OH}_{CH_3} + C_6H_4{<}^{OK}_{CH_3}$; mit anderen Worten: auf je 4 Moleküle des Phenols bezw. der Kresole ist ein Molekül **Kalium** gebunden, während in den entsprechenden **Natriumsalzen** auf nur 3 Moleküle ein Molekül Natrium kommt. Die Kalium-Doppelverbindungen sind — mit Ausnahme von der des o-Kresols — feste, gut kristallisierende Körper, während die Natriumverbindungen, ebenso wie das o-Kresolkaliumsalz sämtlich derartig hygroskopisch sind, daß sie für praktische Verwendung nicht recht geeignet sind.

---

[1]) Fischer, C. und Koske, F., Untersuchungen über die sogenannte „rohe“ Karbolsäure mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zur Desinfektion von Eisenbahnviehtransportwagen. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XIX. 1903. p. 577.)

[2]) Uebelmesser, H., Die Desinfektionskraft des käuflichen Liquor cresoli saponatus. (Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XXXVII. p. 469).

[3]) Fehrs, L., Ueber den Desinfektionswert verschiedener Handelsmarken von Liquor cresoli saponatus des deutschen Arzneibuches. (Dieses Centralbl. Abt I. Bd. XXXVII. p. 730.)

Die erwähnte Phenol-Kaliumverbindung ist in Wasser in jedem Verhältnis leicht klar löslich; die Kresolverbindungen dagegen lösen sich klar in etwa der gleichen Menge Wasser, um sich bei weiterem Zusatz von Wasser unter Abscheidung von Oeltropfen zu trüben, bis schließlich bei einer Konzentration von etwa 2—2$^1/_2$ Proz. wieder völlige Aufhellung und Lösung eintritt.

Zuerst mögen hier einige **Desinfektionsversuche mit dem Phenolkaliumsalz** kurz mitgeteilt werden, zu denen zum Vergleich gleichzeitig reines **Phenol** herangezogen wurde. Die **Versuchsanordnung** war stets folgende: Zu der durch ein steriles Filter hindurchgeschickten gut gewachsenen Bouillonkultur wurde eine genau abgemessene Menge der meist 5-proz. Desinfektionslösung hinzugesetzt; die Abimpfung geschah in 10 ccm Bouillon, die dann etwa 12—14 Tage im Brutschrank gehalten wurde.

Zum Vergleich mußten natürlich gleiche Mengen Phenol verwendet werden, indem 10 Teile Phenol der Rechnung nach 11,04 Teile unseres Phenolsalzes entsprechen; für die Versuche kamen stets rund 11 Teile des Kaliumsalzes auf 10 Teile Phenol zur Anwendung.

	Phenol.		Phenolkalium.
	Staphylococcus aureus.		
3,0 Proz.	Abtötung innerhalb $^1/_2$ Minute	3,3 Proz.	Abtötung innerhalb $^1/_2$ Minute
2,0 „	„ „ $^1/_2$ „	2,2 „	„ „ $^1/_2$ „
1,0 „	nach $^1/_2$ Minute unbeeinflußt	1,1 „	nach 1 Minute unbeeinflußt
	„ 1 „ tot		„ 2 Minuten tot
0,5 „	„ 2 Stunden unbeeinflußt	0,55 „	„ 2 Stunden etwas verlangsamtes Wachstum
	„ 2$^3/_4$ „ tot		„ 2$^3/_4$ Stunden tot
	Bacterium pyocyaneum.		
2,0 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute tot	2,2 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute tot
0,5 „	nach 2$^3/_4$ Stunden unbeeinflußt	0,55 „	nach 1$^1/_2$ Stunden unbeeinflußt
	„ 5$^1/_2$ „ tot		„ 2 „ tot
	Bacterium typhi.		
2,0 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute tot	2,2 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute tot
1,0 „	nach 5 Minuten kaum beeinflußt	1,1 „	nach 3 Minuten kaum beeinflußt
	„ 10 „ tot		„ 5 „ tot
0,5 „	„ 90 „ unbeeinflußt	0,55 „	„ 2$^1/_4$ Stunden beeinflußt
	„ 2$^1/_4$ Stunde tot		„ 2$^3/_4$ „ tot
	Bacterium coli.		
2,0 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet	2,2 Proz.	innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet
1,0 „	nach 3 Minuten unbeeinflußt	1,1 „	nach 5 Minuten unbeeinflußt
	„ 5 „ tot		„ 10 „ tot
0,5 „	„ 2$^3/_4$ Stunden unbeeinflußt	0,55 „	„ 2$^3/_4$ Stunden unbeeinflußt
	„ 5$^1/_2$ „ tot		„ 5$^1/_2$ „ tot

In diesen Versuchen zeigt sich demnach, daß durch die Bindung von $^1/_4$ des Phenols an Kalium im allgemeinen eine wesentliche Aenderung in der Desinfektionswirkung nicht eintritt.

Von den drei isomeren Kresolkaliumsalzen[1]) kam vor allem das Metakresolkalium für die eingehende bakteriologische Untersuchung in Betracht, da das Orthokalium, wie oben bereits erwähnt, infolge seiner Zerfließlichkeit praktisch nicht brauchbar ist, das Parakresol aber eine bedeutend größere Giftigkeit zeigt als das Metakresol, worauf später näher eingegangen werden soll; dazu kommt noch, daß nach den übereinstimmenden Literaturangaben [C. Fränkel[2]), Henle[3]), Hammer[4]), Seybold[5]), Fischer und Koske[6]), Uebelmesser[7])] von den drei Isomeren das Metakresol die größte Desinfektionskraft besitzt; dann folgt das Parakresol und zuletzt das Orthokresol; die Wirkung des gemischten Rohkresols richtet sich nach der prozentuellen Beteiligung seiner Komponenten, wobei allerdings Seybold (l. c.) das Trikresol Schering — welches nach Angaben der Fabrik aus 40 Proz. Metakresol, 35 Proz. Orthokresol und 25 Proz. Parakresol besteht — als dem Orthokresol nur etwa gleichwertig fand, während es nach Schlepegrell[8]) deutlich stärker wirkt als das Kresol purum liquefactum Nördlinger, welch letzteres durch Zusatz von ein Molekül Wasser verflüssigtes Orthokresol ist.

Da das Metakresolkalium in Wasser nur bei kräftigem Schütteln zu etwa 2—$2^1/_2$ Proz. löslich ist, ein Umstand, der der praktischen Verwendung des Präparates im Wege stehen dürfte, so versuchte ich es durch geeignete Zusätze leicht löslich zu machen und in der Tat, es gelang mir, durch Mischen des Metakresolkaliums mit benzoesaurem, salicylsaurem, benzolsulfosaurem Natrium, kurz mit allen den im erloschenen Patent No. 57842 aufgeführten Substanzen, ein in Wasser leicht lösliches, pulverförmiges Produkt zu erzielen. Dasselbe Ergebnis erhielt ich beim Vermischen mit Seifenpulver, als welches ich zuerst die Sapo medicatus des Arzneibuches benutzte: bereits ein Zusatz von 10 Proz. Seifenpulver erhöht die Löslichkeit des Salzes bedeutend; bei einem Zusatz von 20 Teilen Seife auf 80 Teile Metakresolkalium — und das Parakresolkalium verhält sich selbstverständlich genau ebenso — entsteht ein Gemisch, welches sich in etwa 1—2 Teilen Wasser leicht und klar auflöst, um sich bei weiterem Zusatz wieder zu trüben, bis es endlich in der 9—10-fachen Wassermenge wieder völlig löslich ist und sich dann beliebig weiter verdünnen läßt; wässerige Lösungen bis zu etwa

---

1) Unter der Bezeichnung „Kresolkalium“ und ähnlich sollen im nachfolgenden stets, der Kürze halber, unsere Doppelverbindungen aus 3 Kresol + 1 Kresolkalium verstanden sein.

2) Fränkel, C., Die desinfizierenden Eigenschaften der Kresole, ein Beitrag zur Desinfektionsfrage. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889. p. 521.)

3) Henle, A., Ueber Kreolin und seine wirksamen Bestandteile. (Arch. f. Hyg. Bd. IX. 1889. p. 188.)

4) Hammer, H., Ueber die desinfizierende Wirkung der Kresole und die Herstellung neutraler wässeriger Kresollösungen. (Arch. f. Hyg. Bd. XII. 1891. p. 359.)

5) Seybold, C., Ueber die desinfizierende Wirkung des Metakresols Hauff im Vergleich zu Orthokresol, Parakresol, Trikresol Schering, Phenol und Guajakol. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 377.)

6) l. c.

7) l. c.

8) v. Schlepegrell, H., Trikresol Schering und Kresol purum liquefactum Nördlinger als Desinfektionsmittel. (Inaug.-Diss. Göttingen. 1895.)

10 Proz. sind aus dem Pulver leicht durch kurzes Umschütteln oder Umrühren zu erzielen.

Zunächst war nun wieder die Frage zu lösen, ob durch das Ueberführen des Metakresols in das oben erwähnte feste Kaliumsalz eine Aenderung seiner Wirksamkeit herbeigeführt würde und welche Wirkung diesbezüglich ein Seifenzusatz ausübt.

Nachdem mir Vorversuche mit 0,5 und 1-proz. Metakresollösungen eine so rasche Abtötung (innerhalb $^1/_2$—1 Minute) der eingebrachten Mikroorganismen ergeben hatten, daß Unterschiede in der Desinfektionswirkung nicht erkennbar waren, benutzte ich für die nachfolgenden Versuche die Konzentration von 0,25-proz. Metakresol. Zu dem Zwecke versetzte ich je 1 ccm einer durch längeres Schütteln erhaltenen 2-proz. Lösung von reinem Metakresol in 4 Reagenzgläsern mit je 0,5 ccm einer Kalilauge von 0,518 Proz. KOH-Gehalt (0,5 ccm dieser Kalihydratlösung sind im stande, genau $^1/_4$ der in 1 ccm der 2-proz. Metakresollösung enthaltenen Kresolmenge an Kali zu binden, so daß also unser Kresolkaliumsalz frisch hergestellt wird) und außerdem mit wechselnden Mengen einer 1-proz. Lösung von Seife (Sapo medicatus des D.A.B. IV) und schließlich mit so viel sterilem, destilliertem Wasser, daß die Gesamtmenge genau 2,5 ccm betrug. Vier weitere Gläser wurden ebenso beschickt, nur unter Fortfall des Kalihydratzusatzes. Zu diesen Mischungen wurden dann je 5,5 ccm der filtrierten 24-stündigen Bouillonkulturen zugegeben. Die fertigen, also genau 8 ccm betragenden Mischungen enthielten demnach sämtlich je 5,5 ccm Bouillonkultur und 1,0 ccm der 2-proz. Kresollösung, also je 0,25 Proz. Metakresol; außerdem

I.	1,5 ccm Wasser											
II.	1,3	„	„	und	0,2 ccm	Seifenlösung	— 10	Teile	Seife	auf	100	Kresol
III.	1,0	„	„	„	0,5 „	„	— 25	„	„	„	100	„
IV.	0,5	„	„	„	1,0 „	„	— 50	„	„	„	100	„

V.—VIII. je 0,5 ccm der obigen KOH und außerdem

V.	1,0 ccm Wasser											
VI.	0,8	„	„	und	0,2 ccm	Seifenlösung	— 10	Teile	Seife	auf	100	Kresol
VII.	0,5	„	„	„	0,5 „	„	— 25	„	„	„	100	„
VIII.	0,0	„	„	„	1,0 „	„	— 50	„	„	„	100	„

Metakresol 0,25 Proz.	Metakresol-Kalium (0,25 Proz. Kresol).
Staphylococcus aureus.	
Ohne Seife.	
nach $2^1/_2$ Stunden unbeeinflußt	nach $2^1/_2$ Stunden unbeeinflußt
„ $5^1/_4$ „ abgetötet	„ $5^1/_4$ „ abgetötet
Mit 0,025 Proz. Seife (100 Kresol + 10 Seife).	
nach $^1/_4$—1 Std. verlangsamtes Wachstum	nach $^1/_4$—1 Std. verlangsamtes Wachstum
„ $1^1/_2$ „ abgetötet	„ $1^1/_2$ „ abgetötet
Mit 0,0625 Proz. Seife (100 Kresol + 25 Seife).	
nach $^1/_4$—$^1/_2$ Std. verlangsamtes Wachstum	nach $^1/_4$ Std. verlangsamtes Wachstum
„ $^3/_4$ „ abgetötet	„ $^1/_2$ „ abgetötet
Mit 0,125 Proz. Seife (100 Kresol + 50 Seife).	
nach $^1/_4$—$^1/_2$ Std. verlangsamtes Wachstum	innerhalb $^1/_4$ Std. abgetötet
„ $^3/_4$ „ abgetötet	
Bacterium typhi.	
Ohne Seife.	
nach $^1/_4$—$^1/_2$ Std. unbeeinflußt	nach $^1/_4$ Std. unbeeinflußt
„ $^3/_4$—$1^1/_2$ „ verlangsamtes Wachstum	„ $^1/_2$ „ abgetötet
„ 2 „ abgetötet	

Metakresol 0,25 Proz.	Metakresol-Kalium (0,25 Proz. Kresol).
Mit 0,025 Proz. Seife (100 Kresol + 10 Seife).	
nach 1/4—3/4 Std. unbeeinflußt	innerhalb 1/4 Std. abgetötet
„ 1 „ verlangsamtes Wachstum	
„ 1 1/2 „ abgetötet	
Mit 0,0625 Proz. Seife (100 Kresol + 25 Seife).	
nach 1/4—1/2 Std. unbeeinflußt	innerhalb 1/4 Std. tot
„ 3/4 „ abgetötet	
Mit 0,125 Proz. Seife (100 Kresol + 50 Seife).	
nach 1/4 Std. unbeeinflußt	innerhalb 1/4 Std. abgetötet
„ 1/2 „ verlangsamtes Wachstum	
„ 3/4 „ abgetötet	

Eine zur Kontrolle der Seifen- und Alkaliwirkung angesetzte Probe derselben Typhusbouillon, welche 0,0324 Proz. KOH und 0,125 Proz. Seife enthielt zeigte nach 3-tägiger Einwirkung (bei 37 ° C) noch ungeschwächtes Wachstum bei der Ueberimpfung in frische Bouillon. Es war dieses Ergebnis zu erwarten, da nach den vorliegenden Untersuchungen von Beyer[1]), Henle (l. c.), Barsikow[2]), Konradi[3]), Heller[4]), Schumburg[5]) u. a. selbst 10-proz. kalte Lösungen von Kaliseife sowie auch von anderen Seifen, sofern diese ohne Parfümierungszusätze sind, nur einen geringen Desinfektionswert besitzen; die abtötende Wirkung des Seifenspiritus ist völlig unabhängig von seinem Seifengehalt und nur abhängig von seinem Alkoholgehalt.

Das Ergebnis dieser eben aufgeführten beiden Versuchsreihen, von denen die letztere (mit Typhusbakterien) der Kontrolle halber noch einmal mit ganz analogem Erfolg wiederholt wurde, ist ein in verschiedener Hinsicht recht interessantes: Während die Desinfektionskraft des Metakresols gegenüber dem Staphylococcus aureus durch den Alkalizusatz nicht beeinflußt wird, sehen wir beim Typhus sofort das Auftreten einer stärkeren Desinfektionswirkung allein durch die Alkalisierug (beim Phenol war wie oben gezeigt wurde, die Alkalisierung ohne nennenswerten Einfluß). Deutlich ist in beiden Versuchsreihen die Zunahme der Desinfektionswirkung des Kresols durch den Seifenzusatz ausgedrückt, und zwar steigt dieselbe der zugesetzten Seifenmenge entsprechend an, wobei wieder in beiden Reihen die Seife in Gemeinschaft mit dem Alkali stärker wirkt als ohne Alkali; wir können demnach durch Seifenzusatz allein die Wirkung des Metakresols nicht unwesentlich erhöhen, erzielen aber eine noch bessere Wirkung, wenn wir außer der Seife auch noch etwas freies Alkali zugeben.

---

[1] Beyer, Th., Ueber Wäschedesinfektion mit 3-proz. Schmierseifenlösungen und mit Kalkwasser. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXII. 1896. p. 228.)

[2] Barsikow, M., Ueber die bakterientötende Wirkung des Alkohols und des Spiritus saponatus. (Pharmac. Ztg. 1901. p. 49.)

[3] Konradi, D. Ueber die bakterizide Wirkung der Seifen. (Arch. f. Hyg. Bd. XIVL. 1902. p. 101.) — Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI. 1904. p. 151.)

[4] Heller, O., Ueber die Bedeutung von Seifenzusatz zu Desinfektionsmitteln. (Arch. f. Hyg. Bd. XVIIL. 1903. p. 213.)

[5] Schumburg, Bemerkungen zu der Wirkung des Seifenspiritus als Desinficiens medizinischer Instrumente. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. p. 408.)

Eine Erhöhung der Desinfektionswirkung der Rohkresole durch Seifenzusatz betont bereits 1889 Henle (l. c.) ferner auch Nocht[1]), welch letzterer aber den prozentuellen Seifengehalt für belanglos hält, wenn dieser nur groß genug ist, die Kresole in Lösung zu halten. Derselben Ansicht ist Uebelmesser (l. c.), ohne aber selbst diesbezügliche Versuche angestellt zu haben. Bei seinen Versuchen mit Karbolsäure-Seifenmischungen stellte dagegen Heller (l. c.) eine bedeutende Erhöhung der Karbolsäurewirkung durch Seifenzusatz fest, indem eine aus gleichen Teilen Karbolsäure und Kaliseife bestehende Mischung in 0,8-proz. Lösung (0,4 Proz. Phenol) dieselbe Desinfektionskraft äußerte, wie eine seifenfreie 1-proz. Phenollösung; das optimale Verhältnis ermittelte Heller zu 1 Teil Phenol auf 1 Teil Kaliseife. Fischer und Koske (l. c.) führen die auffallend geringe Desinfektionswirkung einer von ihnen geprüften „Karbolsäuremischung“, welche aus 50 Proz. Rohkresol und 50 Proz. einer 32-proz. Natronlauge bestand, auf die Gegenwart der großen Menge Alkali zurück, durch welche fast die gesamte Kresolmenge in Kresolat übergeführt wird, während bei uns nur ein Viertel des vorhandenen Kresols in Kresolkalium verwandelt wird.

Auf Grund der bisher berichteten Versuche wurde für die weiteren Prüfungen nun das von Herrn Dr. Gentsch hergestellte kristallinische Metakresolkalium, welches glatt bei 85—86° C schmilzt, mit einer festen Natronseife — und zwar im Verhältnis von 100 Metakresolkalium mit 25 Seifenpulver — gemischt, verwendet. Bemerkt sei, daß diese Mischung unter dem abgekürzten Namen „Metakalin“ von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., Elberfeld in den Handel gebracht wird; der Kürze halber soll dieser Name von mir auch gleich benutzt werden. Da das Metakresolkalium seiner früher angegebenen Formel entsprechend 91,92 Proz. Metakresol enthält, so sind in dem „Metakalin“ 73,54 Proz. vorhanden. Der Gehalt von 20 Proz. Seife wurde gewählt, weil bei dieser Seifenmenge, worauf ja schon vorher hingewiesen wurde, sich bis zu 10-proz. Metakalinlösungen leicht und rasch herstellen lassen, während gleichzeitig die Seifenmenge nicht so bedeutend ist, um bei den für die Praxis wohl vollkommen genügenden Konzentrationen von 1—2-proz. Metakalin die Hände und Instrumente unangenehm schlüpfrig zu machen, wie es die entsprechend starken Kresolseifenlösungen mit ihren 50 Proz. Kaliseife so gern tun[2]). Da die Kaliseife nämlich etwa 45 Proz. wirkliche Seife enthält — der Rest ist Wasser, Glycerin — so sind in 100 g Kresolseifenlösung — entsprechend 50 g Kresolen — 22,5 g Seife enthalten, während auf 50 g Kresol im Metakalin nur 13,6 g Seife, also nur etwa $^{3}/_{5}$ soviel wie in den Kresolseifenlösungen entfallen. Die durch den geringeren Seifengehalt bedingte Schwächung der Desinfektionskraft wurde durch die stärkere Desinfektionswirkung, welche dem Metakresol gegenüber dem Rohkresol zukommt, auszugleichen gehofft.

---

[1]) Nocht, Ueber die Verwendung von Karbolseifenlösungen zu Desinfektionszwecken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. 1889. p. 521.)

[2]) Da wir wohl annehmen können, daß bei einem Seifenpräparat die Schlüpfrigkeit zu der Viskosität in einem gewissen Verhältnis stehen wird, habe ich einige Messungen mit dem Viskosimeter an 3,4-proz. Metakalin- bezw. 5-proz. Lysollösung, welche beide 2,5 Proz. Kresol enthalten, angestellt. Die Durchlaufszeiten betrugen bei genau gleicher Temperatur der Flüssigkeiten:

Destilliertes Wasser	110,0	113,4,	im Mittel	111,7	Sekunden,
3,4 Proz. Metakalin	120,2	124,6,	„ „	122,4	„
5 Proz. Lysol	143,0	145,2,	„ „	144,1	„

das Lysol zeigt also in 5-proz. Lösung eine bedeutend größere Viskosität als die, im Kresolgehalt entsprechende, 3,4-proz. Metakalinlösung.

Zum Vergleich der Desinfektionswirkung des Metakalins mit einem bekannten Antiseptikum zog ich das Lysol und auch das Nizolysol heran — das Metakalin können wir ja als ein festes Lysol aus reinstem Kresol auffassen —, da dieses nach den verschiedenen Autoren eine gleichmäßige Wirkung zu besitzen scheint, wenngleich ja auch seine Zusammensetzung nur sehr schwierig zu kontrollieren ist, wie am deutlichsten aus der — in der letzten Zeit in ein sehr unerfreuliches Stadium geratenen — Zeitungskontroverse zwischen Arnold[1]) und Schmatolla[2]) hervorgeht. Da das Lysol rund 50 Proz. Rohkresole enthalten soll, während das Metakalin 73,54 Proz. Metakresol theoretisch enthält, so entsprechen 73,54 Teile Lysol im Kresolgehalt 50 Teilen Metakalin, oder 100 Teile Lysol, mit 50 Teilen Kresolen, 68 (67,99 Proz.) Teilen Metakalin oder vereinfacht etwa 3 Teile Lysol 2 Teilen Metakalin.

Zu den Versuchen bediente ich mich 5-proz. Stammlösungen der 3 Desinfizientien, sowie einer 3,40-proz. Lösung von Metakalin, welche zu den filtrierten Bouillonkulturen im Verhältnis von 1:5 bezw. 1:10 hinzugegeben wurden, so daß also die fertige Mischung 1,0 Proz. bezw. 0,5 Proz. von Lysol, bezw. Nizolysol bezw. Metakalin enthielt, während gleichzeitig noch die an Kresolgehalt dem 1-proz. bezw. 0,5-proz. Lysol entsprechende Metakalinlösung von 0,68 Proz. bezw. 0,34 Proz. zur Prüfung kam. Beobachtungszeit der geimpften Bouillon 12—14 Tage.

Bacterium pyocyaneum.

Metakalin 0,34 Proz.: nach 45 Minuten unbeeinflußt, nach 1 Stunde etwas verlangsamtes Wachstum, nach 1$^1/_2$ Stunde abgetötet.

Metakalin 0,5 Proz.: innerhalb 5 Minuten abgetötet.

Lysol 0,5 Proz.: nach 45 Minuten unbeeinflußt, nach 1 Stunde etwas verlangsamtes Wachstum, nach 1$^1/_2$ Stunde abgetötet.

Nizolysol 0,5 Proz.: nach 15 Minuten unbeeinflußt, nach 20 Minuten etwas verlangsamtes Wachstum, nach 30 Minuten abgetötet.

Metakalin 0,68 und 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Lysol und Nizolysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Staphylococcus aureus[3]).

Metakalin 0,34 Proz.: nach 2$^1/_2$ Minuten verlangsamtes Wachstum, nach 5 Minuten abgetötet.

Metakalin 0,5 Proz.: innerhalb 2$^1/_2$ Minuten abgetötet.

Lysol 0,5 Proz.: innerhalb 2$^1/_2$ Minuten abgetötet.

Nizolysol 0,5 Proz.: innerhalb 2$^1/_2$ Minuten abgetötet.

Metakalin 0,68 Proz.: nach $^1/_2$ Minute verlangsamtes Wachstum, nach 1 Minute abgetötet.

Metakalin 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Lysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Nizolysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

---

1) Arnold, C., und Werner, G., Zur Lysolanalyse. (Apotheker-Ztg. 1904. p. 590, 907, 961.)

2) Schmatolla, O., Zur Lysolanalyse. (Apotheker-Ztg. 1904. p. 645, 815, 952.)

3) Zu diesen Versuchen diente ein anderer Stamm, als der vorher benutzte.

(Schluß folgt.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Nachdruck verboten.

Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen.

[Aus dem Institut für Pathologische Anatomie der Kgl. Universität zu Siena (Direktor: Prof. O. Barbacci).]

Von Dr. **Giulio Tarozzi,** Assistenten.

Seitdem man erkannte, daß für die Entwickelung einiger Keime in den gewöhnlichen Mitteln zur künstlichen Züchtung die vollkommene Abwesenheit von Sauerstoff unumgängliche Bedingung war — weshalb sie Anaëroben genannt wurden -- entstand die Frage, in welcher Weise der Sauerstoff seine schädliche Wirkung auf die Entwickelung dieser Keime entfalte, ob nämlich direkt, indem er auf sie wie ein Gift wirkte, oder aber indirekt, indem er durch seine Gegenwart das Zustandekommen jener chemischen Veränderungen behinderte, die unter der Lebenstätigkeit des Keimes im Nährmittel sich vollziehen müssen, damit derselbe Keim assimilieren und leben kann.

Das Problem bleibt noch, trotz der zahlreichen Untersuchungen zu seiner Erklärung, bei dem jetzigen Stande der Wissenschaft vollkommen ungelöst, und das innigere Wesen der Anaërobioseerscheinungen bleibt noch gänzlich in Dunkel gehüllt.

Einigen Autoren ist die Bemerkung nicht entgangen, daß die Fragestellung bedeutend vereinfacht werden könnte, wenn man dazu gelangte, durch geeignete Modifikationen des Nährbodens in aërober Weise Keime leben zu lassen, welche ihrer Natur nach ein vollkommen anaërobisches Entwickelungsmedium fordern, da dies zum direkten Ausschließen der ersten der zwei oben erwähnten Annahmen führen würde. Und nach dieser Richtung fehlte es auch nicht an Versuchen, die aber bis jetzt zu keinem bemerkenswerten Ergebnis geführt haben. Auf die Angabe der neuesten Arbeiten mich beschränkend, will ich erwähnen, daß Oettingen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903), indem er die Untersuchungen Kedrowskys (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895) nachprüft, welcher einem Ferment die Erscheinung der Anaërobiose zuschrieb (eine Annahme, die übrigens schon von Scholtz [Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898] und von Matzushita [Arch. f. Hyg. Bd. XLIII, 1902] widerlegt und als irrig nachgewiesen worden war) zu dem Schluß kommt, daß es keine Hoffnung gibt, einen Kulturboden erhalten zu können, auf dem sich in Reinkultur an der Luft die anaërobischen Mikroorganismen entwickeln können. Bloß Bienstock (Annales Institut Pasteur. 1903) war es gelungen, nach einer langen Reihe von unfruchtbaren Versuchen aërobische Entwickelung seines Bacillus putrificus in, aus Fibrin oder Ascitesflüssigkeit bestehenden Substraten manchmal zu erhalten, nachdem sich auf demselben Nährboden der Bacillus pyocyaneus entwickelt hatte; er bezieht die Tatsache auf unbestimmte, von demselben Pyocyaneus erzeugte Produkte.

Dagegen war es mir gelungen, ein Nährmittel zu bereiten, auf dem sich unter Bedingungen vollkommener Aërobiose viele Keime, Saprophyten und pathogene, die bis jetzt für strenge Anaëroben gehalten wurden, üppig entwickeln. Ich weiß nicht, bis zu welchem Punkte dieses

Nährmittel dem aërobischen Leben so vieler bekannter anaërobischer Mikroorganismen zusagen kann. Ich habe bis jetzt Gelegenheit gehabt, dasselbe nur für einige Saprophytenarten zu versuchen, welche leicht mit diesem Mittel aus dem Darminhalt des Hundes und der verwesenden Menschenleiche züchtbar sind, welche Arten unter einer Gruppe gesammelt wurden, die wegen ihrer morphologischen Verwandtschaft mit dem Tetanusbacillus als die Gruppe der Pseudotetanusbacillen bezeichnet wurde. Ich habe ferner dasselbe Nährmittel für zwei der wichtigsten pathogenen Arten versucht, die zu der Reihe der obligatorischen Anaëroben gehören, nämlich für den Tetanus- und den Rauschbrandbacillus. Für diese Bakterien hat es sich als ein vorzügliches Kulturmittel erwiesen, welches, während es einerseits eine üppige Entwickelung des Keimes bedingt, die pathogenen Eigenschaften desselben nicht im geringsten verändert. Zukünftigen Untersuchungen ist die Feststellung vorbehalten, ob und inwieweit es eine allgemeine praktische Anwendung für die Züchtung der Anaëroben haben kann; solange sie aber nicht endgültig ausgeführt sind, ist es selbstverständlich nicht gestattet, daraus über das intime Wesen der Erscheinung der Anaërobiose irgend welche Folgerungen zu ziehen.

Daher ist dies eine der Zukunft vorbehaltene Aufgabe. In dieser kurzen Mitteilung habe ich die Absicht, mich bloß auf die Beschreibung der Vorbereitungsmethode des Nährmittels zu beschränken; ich werde nur einige Besonderheiten hinzufügen hinsichtlich der Art und Weise der Gewinnung von Reinkulturen in Bezug auf jene Bakterienarten, an welchen ich sie bisher versuchen konnte, da sie demjenigen von Nutzen sein können, welcher den Wert des von mir vorgeschlagenen Mittels nachprüfen will.

Der wesentliche Punkt der Methode besteht darin, die Mikroorganismen, von denen man eine Kultur in aërobischer Form erhalten will, in Gegenwart eines frischen und aseptisch herausgeschnittenen tierischen Gewebestückes sich entwickeln zu lassen. Das Gewebe kann aus irgend einem der üblichen Versuchstiere, Meerschweinchen, Kaninchen, weiße Maus, entnommen werden, unter der Bedingung, daß sich das Tier im Zustand vollkommener Gesundheit befindet, wenn es geopfert wird.

Nicht alle tierischen Gewebe leisten gleich guten Dienst; am besten erweisen sich die Parenchymorgane (Leber, Milz, Niere), dann die Lymphknoten und zuletzt das Muskelgewebe; ganz ungeeignet zeigt sich das Bindegewebe, vornehmlich das dichte und fibröse (Aponeurosen, Sehnen etc.). Das Gewebestück muß zu einem schon vorbereiteten Nährmittel hinzugesetzt werden; zu diesem Zwecke dient am besten unter den flüssigen Mitteln die gewöhnliche peptonisierte Bouillon, unter den festen der in der üblichen Weise bereitete Agar. Nach alldem verfährt man folgenderweise bei der Zubereitung des Nährmittels: Es wird ein Meerschweinchen, eine Maus, ein Kaninchen getötet, dann aseptisch geöffnet und mittels einer, selbstverständlich sterilisierten Pinzette und einer dünnen Schere werden 1 ccm oder dergleichen große Stückchen von Leber, Milz, Nieren und, wenn nötig, auch vom Muskelgewebe (dazu kann selbst der Herzmuskel wohl dienen) herausgeschnitten; man läßt dieselben unmittelbar in ebensoviele Röhren von Bouillon oder von schrägem Agar herabfallen. Beim Herausschneiden der Leberstückchen muß man darauf achten, sich möglichst an die Peripherieteile des Organes zu halten, um die großen Gallengänge zu vermeiden, die sehr oft Keime enthalten. Um vor jeder möglichen Verunreinigung sicher zu sein, setzt man diese Röhre 1 oder 2 Tage lang in den Inkubationsofen bei 37° C, nach welcher Zeit jene verworfen werden, bei denen man eine eventuelle Entwickelung von Keimen beobachtet, während die übrigen beibehalten werden. Es ist gut, dieses Nährmittel nach dessen Zubereitung und Feststellung seiner Sterilität (durch den 1—2tägigen Aufenthalt in dem Thermostaten) sofort anzuwenden; es kann jedoch selbst nach einer gewissen Zahl von Tagen noch ziemlich gut dienen.

Wird ein in dieser Weise zubereitetes Bouillonrohr bloß für einige Minuten bis zum Siedepunkt erwärmt, und wird nach Abkühlung ein obligatorischer Anaërobe (meine diesbezüglichen Versuche wurden fast beständig mit einer Art von Pseudotetanusbacillus, aus dem Darm des Hundes und aus der Leiche gezüchtet, ausgeführt) darin ausgesät, so erhält man noch die Entwickelung der Kultur; wenn aber die Erwärmung bis zum Siedepunkt schon bloß für 5 Minuten verlängert wurde, dann findet im allgemeinen die Entwickelung nicht mehr statt.

Es wird in der üblichen Weise Bouillon zubereitet — gleichgültig ob mit oder ohne Peptonzusatz — und nach dem ersten Kochen und der Neutralisierung in zwei Gruppen geteilt; die eine wird filtriert und in der anderen löst man die Eiweißpräzipitate auf; dann wird sowohl die eine wie die andere Gruppe in Kulturröhren verteilt, indem man dabei darauf achtet, daß in jedem Rohre der zweiten Gruppe ein Teil des Eiweißgerinnsels vorhanden ist; hierauf wird in dem Autoklaven bei 104—105° C für 15 Minuten sterilisiert. Bei der Aussaat von all diesen Röhren mit einem obligatorischen Anaëroben beobachtet man nun, daß die das Eiweißgerinnsel enthaltenden Röhren die Entwickelung der Kultur aufweisen, während die übrigen, welche die filtrierte Bouillon enthalten, steril bleiben. Das Eiweißgerinnsel, das durch die Erwärmung die Farbe eines trockenen Blattes angenommen hatte, nimmt unter der Einwirkung der Keimentwickelung wieder eine mehr oder weniger ausgesprochen rötliche Färbung an. Wenn aber die Sterilisiertemperatur in dem Autoklaven bis zu 110° und weiter hinaus gerückt wird, dann wird das Nährmittel in der Mehrzahl der Fälle für die Entwickelung der Anaëroben ungeeignet.

Wenn Bouillonröhren, die das Eiweißgerinnsel enthalten und bei 104—106° C sterilisiert wurden, welche also fähig sind, üppige Entwickelung eines anaërobischen Mikroorganismus zu bedingen, einfach mit einem Wattebausch zugeschlossen sich überlassen werden, so werden sie nach einer gewissen Zeit (manchmal bloß nach 10—15 Tagen) zur Züchtung der Anaëroben ungeeignet, weshalb sie nach Aussaat steril bleiben.

Wenn in ein Bouillonröhrchen ein Stück von frischem tierischen Gewebe (am besten von einem Parenchymorgane, wie z. B. der Leber) eingetaucht wird, und nach einigen Stunden das eingetauchte Stückchen Parenchymorgan wieder herausgenommen wird und die Bouillon mit einem Anaëroben besät wird, so findet dieser darin die seiner Entwickelung passenden Bedingungen, als ob noch im Nährmittel dasselbe Gewebe vorhanden wäre.

Wenn die Anaëroben, die sich in voller Berührung mit der Luft im von uns zubereiteten Nährmittel gut entwickelt zeigen, in defibriniertem Blut, in Serum, in Eiereiweiß, in Eigelb oder in Milch (letztere wurde notwendigerweise in dem Autoklaven auf eine nicht höhere Temperatur als 104—106° C gebracht und während nicht längerer Zeit als $^1/_4$ Stunde sterilisiert) gesät werden, so entwickeln sie sich in aërobischer Kultur überhaupt nicht und anaërobischerweise erhält man manchmal — jedoch nicht immer — eine mangelhafte Entwickelung, die häufig nicht zu dem Grade der Sporenbildung (sporenbildende Mikroorganismen) führt. Im Fibringerinnsel ist die aërobische Entwickelung recht unbeständig, vielleicht in Zusammenhang mit dessen unbeständiger Zusammensetzung vor allem in Bezug auf den Inhalt an leukocytären Elementen.

Scheinbar kann man aus all diesen Tatsachen folgern, daß die, die aërobische Entwickelung von Anaëroben begünstigende Substanz, welche in den in der angegebenen Weise zubereiteten Kulturböden enthalten ist, von einem Bestandteil des Zellleibes der die Gewebe zusammensetzenden Zellelemente dargestellt wird, welcher Bestandteil leicht herausdiffundierbar, leicht von der Hitze, vornehmlich in Gegenwart von Sauerstoff (Kochen an freier Luft) veränderlich ist, und welcher als solcher, als Ausscheidungsprodukt des Zellenstoffwechsels, in die Organsäfte (Blut, Serum) und in die physiologischen Sekretionen (Milch) nicht übergeht.

Was für eine Substanz dies ist, durch welchen Mechanismus die Hitze deren Grundeigenschaften ändert und ähnliche Fragen sind alles Gegenstände, die ich vorläufig unerörtert lassen möchte. In dieser Mitteilung will ich mich auf die einfache Wahrnehmung der Tatsachen beschränken; ihre Deutung wird den Gegenstand weiterer Untersuchungen bilden.

Vielmehr halte ich es für zweckmäßig, die Aufmerksamkeit des Lesers auf die Art und Weise zu lenken, durch welche man zur Reinigung einer Anaërobenkultur gelangen kann, die direkt mittels dieses Nährsubstrates gewonnen wurde, wenn — was leicht vorkommt, da dasselbe ein geeignetes Mittel zur Entwickelung aller Mikroorganismen überhaupt ist — dieselbe Kultur von anderen Keimen verunreinigt vorgefunden wird. Ich schicke voraus, daß sich meine diesbezüglichen Untersuchungen nur auf jene anaërobischen Mikroorganismen erstrecken, welche die Eigenschaft besitzen, Sporen zu bilden; für diese gelingt die Reinigung der Kultur sehr leicht, indem man dabei zu einem, schon von anderen Autoren (Klein, Bienstock, Tavel etc.) angewendeten technischen Kunstgriff greift. Es wird nämlich die Mischkultur der Hitzeeinwirkung von 80° C ausgesetzt, wodurch die Mehrzahl der nicht sporenbildenden Keime stirbt, während die Sporen der Anaërobe widerstehen und die Eigenschaft nicht einbüßen, in ein ihrer Entwickelung passendes Mittel übergeführt, zu gedeihen.

Zur Reinigung einer solchen Kultur verfährt man also folgendermaßen: Zunächst untersucht man tagtäglich die Kultur, die sich im Thermostaten entwickelt, solange man nicht im hängenden Tropfen konstatiert, daß die Mehrzahl der Anaëroben die Zeitperiode der Sporenbildung erreicht hat; sodann erwärmt man die Kultur auf 80° C 5 Minuten lang und nachher macht man davon Ueberpflanzungen in in der üblichen Weise zubereitete Röhren, die man zur Inkubation in den Thermostaten setzt. Wenn nach mehreren Inkubationstagen eine direkte Untersuchung der Kulturen zeigt, daß die Reinigung noch nicht vollkommen erreicht wurde, so wiederholt man die Manipulation ein zweites und eventuell ein drittes Mal; danach wird nur selten das Ziel nicht erreicht.

Es gibt noch ein anderes Reinigungsmittel der Kulturen, dieses ist aber nur unter ganz besonderen Bedingungen anwendbar, wenn es sich nämlich um Reinigung von Kulturen von sporenbildenden Anaëroben handelt, die von jeder pathogenen Wirkung frei sind; mir ist dies ausgezeichnet gelungen, bei der Reinigung der Kulturen von Pseudotetanusbacillen, die entweder aus dem Darminhalt des Hundes oder aus der in Verwesung begriffenen Leiche entnommen waren; ich weiß nicht, ob es ebensogut für andere sporenbildende, nicht pathogene Anaëroben anwendbar ist, da ich keine diesbezügliche Erfahrung habe. Die Methode beruht auf der von mir bei den Pseudotetanusbacillen erkannten Eigenschaft, im Sporenzustande lange Zeit in den Organen von Tieren zu bleiben, denen man unter die Haut eine sporenreiche Kultur derselben inokuliert hat. Will man diese Methode verwerten, so muß man folgendermaßen verfahren:

Man erwärmt eine Kultur, die mit anderen Keimen viele Anaëroben (in diesem Falle Pseudotetanusbacillen) enthält, 5 Minuten lang auf 80 ° C und dann injiziert man (die Bouillonkulturen passen deswegen besser als diejenigen in festem Substrat) davon 1 oder 2 ccm einem Meerschweinchen oder einer weißen Maus unter die Haut. Das Tier überlebt im allgemeinen und zeigt keine bemerkenswerten Reaktionserscheinungen, mit Ausnahme einer schwachen Anschwellung an der Injektionsstelle, die mit der Zeit langsam verschwindet. Wird die nicht der Einwirkung der Hitze ausgesetzte Kultur injiziert, so entsteht häufig die Gefahr, das Tier mehr oder minder rasch sterben zu sehen. Demjenigen, welcher diese Methode zur Reinigung von Pseudotetanusbacillenkulturen anwenden will, halte ich für zweckmäßig wissen zu lassen, daß die Sporen dieses Keimes der Temperatur von 80 ° C 5 Minuten lang nicht immer widerstehen. Dies geschieht vor allem, wenn sich die Sporenbildung in ihrem Beginn befindet; deshalb ist es vorteilhaft, um in diesen Fällen Zeit- und Tierverluste zu vermeiden, die Injektion von einer zweiten Ueberpflanzung zu machen, die man aus der, der Hitzeeinwirkung ausgesetzten Kultur erhält. Auf diese Weise sind wir sicher, daß wenigstens einige Sporen der hohen Temperatur widerstehen konnten, und diese bieten uns binnen wenigen Inkubationstagen, indem sie sich im neuen Kulturboden reichlich vermehren, eine derartig an lebenden Sporen reiche Kultur, daß jeder Mißerfolg bei ihrer Injektion in das Tier von vornherein ausgeschlossen ist.

Die so inokulierten Tiere können eine ziemlich lange Zeit, bis zu einem Monat und mehr, am Leben erhalten werden, ohne Gefahr eines Mißerfolges aber können sie gewöhnlich nach 10—15 Tagen geopfert werden und dann erhält man mit Sicherheit die Entwickelung des inokulierten Pseudotetanusbacillus in Reinkultur, indem man mit dem von uns vorgeschlagenen Nährmittel aus der Milz oder Leber Kulturen ausführt. In diesen Fällen kann man noch rascher vorgehen: Man braucht nämlich nicht das in der von uns angegebenen besonderen Weise zubereitete Nährmittel anzuwenden, sondern es genügt, in Röhren von gewöhnlicher Bouillon oder auf den Boden von Röhren von schrägem Agar ein dem Tiere selbst entnommenes Leber- oder Milzstück direkt fallen zu lassen. Die Bedingungen für die aërobische Entwickelung werden gleichfalls erreicht.

Ich beende diese kurze Mitteilung mit der Angabe, daß das von mir zubereitete Nährmittel sich als ein vorzüglicher Kulturboden im aërobischen Medium für verschiedene, aus dem Hundedarm und aus der menschlichen Leiche gezüchtete Pseudotetanusbacillen, für drei Exemplare von Tetanusbacillen verschiedener Herkunft und für eine aktive Kultur von Rauschbrandbacillus erwiesen hat.

Siena, den 15. November 1904.

Nachtrag.

Die Verspätung in der Veröffentlichung dieser Mitteilung bietet mir Gelegenheit, einiges aus meiner weiteren Erfahrung auf dem Gebiete der Anaërobenzüchtung mittels meines Verfahrens dem oben Gesagten kurz hinzuzufügen. Nach den bis jetzt gewonnenen Ergebnissen eignet sich mein Verfahren noch ganz gut zur Züchtung der folgenden Mikroorganismen: Vibrio septicus, Bac. enteritidis sporogenes (Klein), Bac. putrificus (Bienstock), Bac. cadaveris sporogenes (Klein), Bac. carnis (Klein), Paraplectrum foetidum (Weigmann), Clostridium carnis foetidum, Bac. d. Bradsot (Jensen), Bac. carnis saprogenes, Bac. botulinus (van Ermengem). Daher glaube ich dazu berechtigt zu sein, dem von mir zur aëroben Züchtung der Anaëroben vorgeschlagenen Verfahren eine allgemeine Geltung zuzuschreiben, in dem Sinne, daß es sich zur Züchtung der meisten und besonders der wichtigsten bekannten anaëroben Mikroorganismen leicht und gut eignet.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bertarelli, E., Ueber die aktive Immunisierung des Menschen gegen Cholera vermittelst autolytischer Produkte des choleragenen Vibrio und über das Wesen dieser autolytischen Produkte, p. 584.

Bonome, A., Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion, p. 601.

Cohn, Erich, Endgültige Entgegnung an Dr. Vilh. Jensen auf seine Frage: „Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art?, p. 521.

Doerr, R., Beobachtungen über bacilläre Dysenterie. (Schluß.), p. 511.

Friedberger u. **Dorner,** Ueber die Hämolysinbildung durch Injektion kleinster Mengen von Blutkörperchen und über den Einfluß des Aderlasses auf die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beim Kaninchen, p. 544.

Halberstaedter, Ludwig, Untersuchungen bei experimentellen Trypanosomenerkrankungen, p. 525.

Jörgensen, Axel, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Forts.), p. 556.

Kireeff, M., Bakteriologische Untersuchungen des Blutes bei Flecktyphus, p. 518.

Landsteiner, Karl u. **Leiner, Karl,** Ueber Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blut, p. 548.

v. Linstow, Strongyloides Fülleborni n. sp., p. 532.

Lüdke, H., Zur Spezifität der Antikörper. (Schluß.), p. 537.

Shibayama, G., Paratyphus in Japan, p. 497.

Sieber, N., Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe des Blutfibrins, p. 571.

Speiser, P., Zur Kenntnis ektoparasitischer Milben, p. 535.

Südmersen, Henry J., On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum, p. 591.

Tarozzi, Giulio, Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen, p. 619.

Tiberti, N., Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern. (Forts.), p. 499.

Wesenberg, G., Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat, p. 612.

Zschokke, F., Dipylidium caninum (L.) als Schmarotzer des Menschen, p. 534.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 6.

Nachdruck verboten.

Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern.

[Institut für allgemeine Pathologie zu Florenz (Direktor:
Prof. A. Lustig).]

Von Dr. **N. Tiberti,**
Privatdozent für Bakteriologie an der k. Universität Florenz.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung und Schluß.)

XVIII. Zentripetale Wanderung des Tetanusgiftes in den Achsencylinder.

Inokuliert man Tetanustoxin in das Rückenmark oder Gehirn eines Tieres, so dringt der größte Teil desselben ohne Zweifel in die Lymphräume ein, an denen diese Organe reich sind. In gleicher Weise kann bei Injektion von Toxin in die peripherischen Nervenstämme sogar die ganze Quantität Toxin in die Lymphräume eindringen, statt in die vom Endoneurium eingeschlossenen Bündel oder bei schlecht gelungenen Injektionen in die sehr dünnen Nerven auch in das schlaffe Gewebe des Perinevriums. In diesem letzteren Falle fehlen die charakteristischen Erscheinungen der Vergiftung durch direkte Inokulation in das Parenchym der Nerven, d. h. kurze Inkubationszeit und schärfer ausgeprägte Vergiftungserscheinungen.

Da das Tetanustoxin sich in den Lymphräumen ausbreitet, so finden wir es natürlich auch im peripherischen Teile des Nerven an der Inokulationsstelle, wie sich leicht aus folgendem Experiment ergibt:

Kaninchen XX. Gewicht 2,300 kg.

22. April. Ich injiziere einige Tropfen Tetanustoxin in den rechten N. ischiadicus. Nach 15 Stunden entnehme ich 3 Stücke vom N. ischiadicus von derselben Länge (1 cm), ein Stück entsprechend der Injektionsstelle, eins unmittelbar darüber, und eins unmittelbar darunter. Aus diesen 3 Stücken bereite ich getrennte Lösungen in physiologischer NaCl-Lösung. Von einer jeden dieser 3 Emulsionen injiziere ich subkutan $^1/_2$ ccm bei 3 Mäusen.

Die mit der Emulsion aus dem der Inokulationsstelle des Toxins entsprechenden Nervenstück inokulierte Maus verendet nach 42 Stunden.

Die mit der Emulsion aus dem unmittelbar oberhalb der Inokulationsstelle entnommenen Nervenstück geimpfte Maus verendet nach 48 Stunden.

Die mit der Emulsion aus dem unmittelbar unterhalb der Inokulationsstelle entnommenen Nervenstück geimpfte Maus verendet nach 56 Stunden.

Man muß jedoch annehmen, daß das Tetanustoxin in den Achsencylinder zentripetal wandert, um zu den Rückenmarkszentren zu gelangen.

Mithin wird das von den Nervenendigungen an der Peripherie aufgenommene Tetanustoxin auf dem Wege der Nerven zu den Rückenmarkszentren getragen, deren Vergiftung die Tetanuserscheinungen verursacht.

Dieser zentripetale Transport des Tetanustoxins durch die Nerven hat nach Meyer und Ransom eine große Bedeutung insofern, als sie die Frage einigermaßen aufklären könnte, welchen Weg die Substanzen im Nervensystem einschlagen, sowie die Ernährungsvorgänge in letzterem.

Die Hypothese von einer beständigen Protoplasmaströmung in den Neuronen findet eine starke Stütze in den Untersuchungen von Di Vestea und Zagari über das Virus der Tollwut. Nach Ansicht dieser Autoren erreicht das Virus der Tollwut die Nervenzentren auf dem Wege der Nerven und verbreitet sich im Rückenmark ohne Beteiligung des Kreislaufes. Es besteht jedoch ein großer Unterschied zwischen der Weiterleitung des Virus der Tollwut und derjenigen des Tetanustoxins, insofern als es sich im ersteren Falle um eine lebende Substanz handelt, die nach Di Vestea und Zagari in der Nervensubstanz den für sie passenden Nährboden findet und sich demgemäß Schritt für Schritt in der Nervensubstanz entwickelt. Dagegen handelt es sich im Falle des Tetanustoxins nur um eine tote Substanz, die sich nicht vermehrt und deren Transport in den Nerven ohne Zweifel in passiver Weise erfolgt infolge des Fortschreitens eines physiologischen Stromes.

Es ist jedoch nicht absolut auszuschließen, daß auch dieses Moment die Weiterbeförderung des Virus der Tollwut von der Peripherie nach den Nervenzentren beeinflussen kann und daß es von Bedeutung in Bezug auf Gifte anderer Natur sein kann.

Mosse neigt in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit über die experimentelle Bleikolik zu der Hypothese, daß bei letzterer das Blei zum Ganglion coeliacum vermittelst der Sympathicusnerven gelange.

XIX. Tetanusgiftinjektion in das Rückenmark.

Die Tetanusgiftinjektion in die Substanz des Rückenmarkes führte ich zu dem Zwecke aus, um namentlich zu sehen, ob es auf diese Weise gelänge, die Inkubationszeit abzukürzen, was man durch direkte Inokulation von Tetanustoxin in den N. ischiadicus erreichen kann, während es infolge intravenöser oder subarachnoidaler Injektion nicht eintritt.

Hund V. Gewicht 4,800 kg.

22. April 1904, 4 Uhr nachm. Ich bringe eine Oeffnung in der Wirbelsäule an in der Höhe zwischen dem 2. und 4. Lendenwirbel. Ich isoliere die Dura. Ich injiziere in die Substanz des Rückenmarkes $^1/_4$ ccm Tetanusgift, indem ich die Injektion nach unten und nach oben richte.

6 Uhr 30 Min. nachm. Der Hund beginnt stark zu heulen und zeigt sehr deutlich ausgeprägte Erscheinungen von Tetanus in den Hinterbeinen. Später treten allgemeine Kontrakturen namentlich in den Interkostalmuskeln auf. Opisthotonus — Trismus. Die Kontrakturen kommen in Anfällen; während der Pausen ist der Hund niedergeschlagen und heult nicht.

22. April 9 Uhr vorm. Der Hund scheint sehr zu leiden; die Hinterbeine sind starr, die vorderen etwas weniger. Er verendet $9^1/_2$ Uhr.

Kaninchen XXI. Gewicht 1,800 kg.

22. April 10 Uhr vorm. Aethernarkose. Indem ich die beim vorhergehenden Experiment angegebene Technik befolge, injiziere ich einige Tropfen Tetanustoxin in das Lendenmark, sowohl in cranialer als caudaler Richtung. Um die Mittagszeit ist das Kaninchen unruhig; von Zeit zu Zeit schreit es laut.

2 Uhr nachm. Kontraktur im linken Hinterbein. Wenn man das Tier in der Glutäalgegend dieser Seite berührt, so reagiert es heftig und winselt laut.

6 Uhr abends. Die Kontraktur im linken Bein hat merklich zugenommen; auch das rechte Bein zeigt eine leichte Kontraktur.

9 Uhr abends. Das Vorderbein ist etwas steif geworden. Die Kontrakturen der Hinterbeine sind sehr stark ausgeprägt. Deutlicher Opisthotonus.

23. April morgens. Verendet aufgefunden.

Kaninchen XXII (Kontrolltier). Gewicht 2,050 kg.

22. April 4 Uhr nachm. Aethernarkose. Anwendung derselben Technik wie bei den vorhergehenden Experimenten. Ich injiziere in die Substanz des Lendenmarkes $^1/_4$ ccm sterilisierter physiologischer NaCl-Lösung. Während der folgenden Tage zeigt sich keine krankhafte Erscheinung. Das Tier empfindet nicht die geringste Einwirkung der Injektion.

Wie man also aus den vorhergehenden Experimenten ersieht, zeigten sich beim Hunde die tetanischen Kontrakturen $2^1/_2$ Stunden nach der Injektion von Tetanustoxin in den Strang des Rückenmarkes, beim Kaninchen nach 4 Stunden. Mithin erhält man eine sehr beträchtliche Abkürzung des Inkubationsstadiums, das Bild des Tetanus ist das eines außerordentlich schweren, und der Tod tritt sehr schnell ein. Aehnliche Resultate erhielten Meyer und Ransom bei Katzen. Bei letzteren zeigen sich nach subkutaner oder intravenöser Giftinjektion die Tetanuserscheinungen nie vor Ablauf von 28—30 Stunden, während nach direkter Injektion in die Substanz des Rückenmarkes die ersten Tetanuserscheinungen 3—4 Stunden nachher auftreten. Folglich wird gewiß der größte Teil der Inkubationszeit beim Tetanus durch den Transport des Toxins durch die Nervenbahn bis zu den Rückenmarkszentren in Anspruch genommen; bringt man das Toxin in direkte Berührung mit diesen Nervenzentren, so wird demnach die Inkubationszeit bedeutend abgekürzt.

In dieser Hinsicht sind die Experimente bekannt, die Roux, Borrel und andere in Bezug auf den Gehirntetanus durch direkte Injektion von Toxin in die Substanz des Gehirns ausgeführt haben.

Aus den vorausgehenden Untersuchungen ergibt sich ebenfalls, daß nicht nur die Vermehrung der Reflexe, sondern auch die den Tetanus charakterisierende tonische Kontraktur der Muskeln von der Wirkung des Giftes auf die Nervenzentren herstammt und daß eine peripherische Affektion irgend welcher Art ausgeschlossen werden kann.

XX. Der Tetanus dolorosus.

Meyer und Ransom haben die Beobachtung gemacht, daß man bei direkter Injektion von Tetanustoxin in das Rückenmark als erstes Symptom eine Störung in der Sensibilität erhält, die streng lokalisiert bleibt, auch dann, wenn die anderen Vergiftungserscheinungen allgemein werden. Auf die Injektion des Giftes folgen bald und schnell heftige schmerzliche Anfälle, die mit Leichtigkeit auf reflexivem Wege erregt werden können infolge der leichtesten Berührung oder durch Blasen auf die entsprechende Stelle der Haut. Das Tier wendet sich alsdann mit einem Schrei gegen die Stelle der Injektion und beißt wütend hinein; nach wenigen Minuten hört der Schmerz auf, um dann von neuem zu beginnen. Zuweilen verendet das Tier infolge nervöser Erschöpfung, oft auch, ehe die gewöhnlichen Symptome des Tetanus sich zeigen.

Diese besondere Form von Tetanus, die niemals auftritt, wenn man das Toxin subkutan in die Blutbahn oder in den Umfang der peripherischen Nerven injiziert, ist durch den Namen Tetanus dolorosus charakterisiert worden. Wie soll man nun diese Tatsache erklären? Zwei Hypothesen können in Betracht gezogen werden, entweder daß die sensiblen Nerven nicht im stande sind, das Tetanustoxin aufzunehmen und es zu den Nervenzentren weiter zu befördern, oder daß das längs ihres Weges befindliche Ganglion spinale ein Hemmnis für das Toxin bildet.

Meyer und Ransom sahen, daß man die reine Form des Tetanus dolorosus nur dann hervorrufen kann, wenn das Gift in die sensitive Wurzel zwischen dem Ganglion spinale und dem Mark injiziert wird, daß dagegen, wenn man die Nadel der Syringe durch die Radix posterior bis zur Substanz des Rückenmarkes einführt, daraus die gemischte Form des Tetanus entsteht, wie infolge von Injektion von Toxin in das Rückenmark.

XXI. Wanderung des Tetanustoxins in den Achsencylinder.

Nach **Marie** und **Morax** haben die peripherischen Endigungen der Neurone allerdings eine elektive, aber flüchtige Wirkung auf das Tetanustoxin, während die Zellenkörper der Neurone selbst eine sehr große Affinität für dasselbe besitzen. Aus dieser Tatsache könnte man folgern, daß ein wahres Vorrücken des Tetanustoxins in der Substanz der Cylinderachse stattfände; man müßte eine wahre Zirkulation des Toxins zentripetal erhalten, und der in dieser Leitung zirkulierende Strom würde durch den Umstand erzeugt, daß die Flüssigkeit sich von einer Substanz, die mit einer schwächeren Affinität für sie ausgestattet ist, zu einer Substanz hin begibt, die eine stärkere Affinität für sie besitzt.

Ich wollte mich von der Wahrheit dieser Tatsache überzeugen, die, wie man leicht einsieht, von großer Bedeutung ist, und ich wiederholte die folgenden Experimente.

Meerschweinchen XX. Gewicht 440 g.

21. Mai 1904, 3 Uhr 30 Min. nachm. Injektion von $^1/_2$ ccm Tetanustoxin in die Muskeln der linken Wade.

5 Uhr nachm. Ich durchschneide den linken N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehle.

5 Uhr 15 Min. nachm. Ich entnehme den linken N. ischiadicus und impfe ihn ein unter die Haut einer Maus.

22. Mai. Die Maus zeigt leichte Tetanuserscheinungen.

23. Mai. Die Tetanuserscheinungen sind deutlicher ausgeprägt.

24. Mai. Ich finde die Maus verendet; Glieder und Schwanz zeigen starke Kontrakturen.

Meerschweinchen XXI. Gewicht 390 g.

21. Mai 1904, 3 Uhr 40 Min. nachm. Injektion von $^1/_2$ ccm Tetanustoxin in die Muskeln der linken Wade.

5 Uhr 20 Min. nachm. Ich durchschneide den linken N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehle.

6 Uhr 20 Min. nachm. Ich exstirpiere den linken N. ischiadicus und impfe ihn einer Maus unter die Haut.

22. Mai. Die Maus beginnt Erscheinungen von Tetanus zu zeigen; diese dauern in leichtem Grade 5 Tage hindurch, verschwinden dann allmählich und die Maus überlebt.

Meerschweinchen XXII. Gewicht 378 g.

24. Mai 3 Uhr nachm. Injektion von Tetanustoxin wie oben.

4 Uhr 30 Min. nachm. Durchschneidung des linken N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehle.

6 Uhr 30 Min. nachm. Ich entnehme den linken N. ischiadicus und impfe ihn unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage nur leichte Tetanuserscheinungen zeigt.

Meerschweinchen XXIII. Gewicht 410 g.

24. Mai 3 Uhr 15 Min. nachm. Ich injiziere Tetanustoxin in die Muskeln der linken Wade. Nach $1^1/_2$ Stunde durchschneide ich den N. ischiadicus derselben Seite in der Höhe der Kniekehle. 24 Stunden nach dieser letzten Operation exstirpiere ich den N. ischiadicus und impfe ihn unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage keine Erscheinungen von Tetanus zeigt.

Mithin habe ich bei den vorausgehenden Experimenten nach Inokulation des Tetanustoxins in die Muskeln des Hinterbeines des Meerschweinchens den N. ischiadicus derselben Seite nach $1^1/_2$ Stunde, d. h. in einem Moment durchschnitten, in welchem der Nerv reichlich mit Toxin durchtränkt ist. Indem ich dann den Nerv exstirpierte in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Durchschneidung (nach $^1/_4$ Stunde, 1 Stunde, 2 Stunden, 24 Stunden), habe ich seine Giftigkeit versucht, indem ich ihn subkutan bei Mäusen einimpfte. Aus den oben geschilderten Experimenten ergibt sich, daß der Nerv um so mehr von seiner Toxizität allmählich verliert, je mehr man sich von dem Moment der Durchschneidung entfernt, was klar beweist, daß wir es in unserem Falle mit einem Vorrücken des Tetanustoxins gegen die Nervenzelle hin zu tun haben, so daß der Nerv sich ganz allmählich davon befreit.

Behring stützt sich auf die von **Helmholtz** aufgestellte Hypothese von der Leitung der Nervenreize den Nerven entlang und nimmt an, durch den Inhalt der Ganglienzellen werde eine Anziehung ausgeübt auf das Tetanustoxin, das sich im Umkreis ihrer Wirkung befindet, und dies finde statt vermittelst einer in dem Achsencylinder enthaltenen flüssigen Substanz, die **Behring** mit dem Namen Konduktor bezeichnet hat.

Die Substanz der Achsencylinder besitzt dieselbe Zusammensetzung wie das Cytoplasma der Ganglienzellen, woraus sich die Nerveneinheit, das Neuron, ergibt. Nach **Behring** findet, wenn die toxischen Moleküle die Wirkungssphäre der Substanz der Achsencylinder erreichen, sogleich eine Attraktion statt zwischen den Molekülen des Tetanustoxins und seinem Antikörper, der sich in der Substanz der Achsencylinder in gesättigter Lösung befindet. Antitoxische und toxische Moleküle neutralisieren sich in bestimmten Verhältnissen und liefern den aus den beiden Arten von Molekülen resultierenden Körper; in dem Achsencylinder, im Bereich der Neutralisation, bildet sich ein leerer Raum für die antitoxischen Moleküle; dadurch wird der Zustand des Gleichgewichts aufgehoben in der flüssigen Substanz der Achsencylinder, die unter normalen Verhältnissen durch Moleküle von Antitoxin gesättigt ist. Gemäß den bekannten physischen Gesetzen muß das Streben nach Rückkehr zum Gleichgewicht befriedigt werden, und dies kann nur durch Strömungen von antitoxischen Molekülen in dem vorhandenen leeren Raume geschehen. Indessen wandern auch die toxischen Moleküle vermöge ihrer Affinität zu den antitoxischen Molekülen in dem Achsencylinder weiter, indem sie sich nach oben wenden, gegen den Inhalt der Ganglienzellen, in denen sie die Veränderungen hervorrufen, die ich später beschreiben werde.

Die von mir in Bezug auf den zentripetalen Transport der Toxinmoleküle in dem Achsencylinder angestellten Untersuchungen sind eine experimentelle Bestätigung dieser theoretischen Ansicht **Behrings**.

Bei meinen Experimenten, die den Zweck hatten, in verschiedenen Fällen die Toxizität der Nerven von tetanischen Tieren zu erproben, konnte ich konstatieren, daß man bisweilen sehr deutliche Tetanuserscheinungen erhält, dann wieder leichte Erscheinungen, und daß in anderen Fällen sich gar keine Spur von Tetanus zeigt. In letzterem Falle muß man annehmen, daß die von dem Nerven angenommene Menge Toxin zu unbedeutend ist, um Tetanuserscheinungen hervorzurufen; man kann nicht ohne weiteres ausschließen, daß der Nerv gar kein Toxin enthält. Alle Nervenfasern müssen nach **Marie** das im Kreislauf befindliche Toxin resorbieren und es zu den Nervenzentren befördern.

Meerschweinchen XXIV. Gewicht 320 g.

20. Mai 1904, 9 Uhr 30 Min. vorm. Ich durchschneide den linken N. ischiadicus in der Höhe der Incisura ischiadica. Unmittelbar nachher injiziere ich $^1/_2$ ccm Tetanustoxin in die Wadenmuskeln der gegenüberliegenden Seite.

21. Mai 10 Uhr vorm. Das Meerschweinchen zeigt deutliche Erscheinungen von Tetanus. Es wird getötet. Ich exstirpiere den N. ischiadicus der mit Toxin inokulierten Seite und impfe ihn unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage schwere Tetanuserscheinungen zeigt und nach 5 Tagen verendet.

Ich exstirpiere den N. ischiadicus der anderen Seite und impfe ihn unter die Haut einer anderen Maus, die während der folgenden Tage nur sehr leichte Kontrakturen in den hinteren Gelenken zeigt und überlebt.

Meerschweinchen XXV. Gewicht 355 g.

20. Mai 1904, 10 Uhr vorm. Durchschneidung des rechten N. ischiadicus in der Höhe der Kniekehle. Unmittelbar nachher Injektion von $^{1}/_{2}$ ccm Tetanustoxin in die Wadenmuskeln der entgegengesetzten Seite.

21. Mai 10$^{1}/_{2}$ Uhr vorm. Das Meerschweinchen zeigt Erscheinungen von Tetanus. Es wird getötet. Ich entnehme den N. ischiadicus der mit Toxin inokulierten Seite und impfe ihn unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage an Tetanus verendet. Die andere Maus, bei der ich den N. ischiadicus eingeimpft hatte, den ich am vorhergehenden Tage in der Kniekehle durchschnitten hatte, zeigte keine Erscheinung von Tetanus.

Aus diesen beiden Experimenten ergibt sich deutlich die *Bedeutung, welche man den peripherischen Nervenendigungen bei der Resorption des Tetanustoxins und bei dem Transport des letzteren zu den Rückenmarkszentren durch die Nerven zuschreiben muß.* Und daß die Resorption des Tetanustoxins von seiten der letzteren eine konstante Erscheinung ist und daß zu ihrer Veranlassung keine Läsion des peripherischen Neurons erforderlich ist, haben *Marie* und *Morax* folgendermaßen bewiesen: Sie inokulierten Tetanustoxin in das Corpus vitreum oder in den Hoden; nach 24 Stunden, wenn das Tier Erscheinungen von allgemeinem Tetanus zeigt, inokuliert man bei Mäusen einen N. ischiadicus und die beiden N. brachialis und erhält Tetanuserscheinungen, die nicht auftreten, wenn man nur einen N. ischiadicus inokuliert, eben weil in ihm nicht eine genügende Quantität Toxin enthalten war.

XXII. Affinität des Tetanusgifts zur Substanz der peripherischen Nerven beim Kaninchen und Meerschweinchen.

Alle Autoren stimmen in der Annahme überein, daß, während das Meerschweinchen auch für kleine Dosen von Tetanustoxin empfänglich ist, das Kaninchen verhältnismäßig große Widerstandsfähigkeit zeigt, und, wie ich schon an anderer Stelle bemerkte, stärkere Dosen Toxin erforderlich sind, um Tetanuserscheinungen zu verursachen.

Höchstwahrscheinlich erklärt sich diese Tatsache daraus, daß die Affinität des Tetanusgiftes zur Nervensubstanz des Kaninchens geringer ist als zur Nervensubstanz des Meerschweinchens, wie sich aus folgenden Experimenten ergibt:

Meerschweinchen XXVI. Gewicht 385 g.

20. Mai 1904, 11 Uhr vorm. Inokulation von $^{1}/_{2}$ ccm Tetanustoxin in die linke Wade.

21. Mai 11 Uhr vorm. Ich exstirpiere den linken N. ischiadicus und inokuliere ihn unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage Erscheinungen von heftigem Tetanus zeigt und verendet.

Kaninchen XXIII. Gewicht 1,800 kg.

20. Mai 1904, 11 Uhr 15 Min. vorm. Injektion von $^{1}/_{2}$ ccm Tetanustoxin in die linke Wade. Nach 24 Stunden exstirpiere ich den linken N. ischiadicus, nehme davon ein in Bezug auf Dimensionen und Gewicht dem N. ischiadicus des Meerschweinchens gleichwertiges Stück (siehe voriges Experiment) und impfe es unter die Haut einer Maus, die während der folgenden Tage nur sehr leichte Erscheinungen von Tetanus zeigt und überlebt.

Es schien mir auch wichtig, zu untersuchen, in welchem Zustand das Tetanustoxin sich in den peripherischen Nerven befindet, und zu diesem Zwecke führte ich die folgenden Experimente aus:

Meerschweinchen XXVII. Gewicht 410 g.

23. Mai 1904, 9 Uhr vorm. Injektion von $^{1}/_{2}$ ccm Tetanustoxin in die Muskeln der linken Wade.

10 Uhr vorm. Ich exstirpiere den linken N. ischiadicus und lege ihn zum Einweichen in 1 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung.

11 Uhr vorm. Die Flüssigkeit inokuliere ich einer Maus — einer anderen Maus impfe ich den Nerv ein.

Beide Mäuse zeigen während der folgenden Tage deutliche Erscheinungen von Tetanus.

Meerschweinchen XXVIII. Gewicht 395 g.

23. Mai 1904, 9 Uhr 15 Min. Injektion von $^1/_2$ ccm Tetanustoxin in die Muskeln der linken Wade.

10 Uhr 15 Min. vorm. Ich entnehme den linken N. ischiadicus und halte ihn 6 Stunden lang eingetaucht in 1 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung.

3 Uhr 15 Min. nachm. Einer Maus inokuliere ich die Flüssigkeit, einer anderen den Nerv.

Die mit der Flüssigkeit geimpfte Maus zeigt während der folgenden Tage deutlich ausgeprägte Tetanuserscheinungen.

Die mit dem Nerven geimpfte Maus zeigt keine Tetanuserscheinung irgend welcher Art.

Meerschweinchen XXIX. Gewicht 400 g.

23. Mai 1904, 9 Uhr 30 Min. vorm. Injektion von $^1/_2$ ccm Tetanusgift in die Muskeln der linken Wade.

10 Uhr 30 Min. Ich entnehme den N. ischiadicus der entsprechenden Seite und tauche ihn in 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

24. Mai 1904, 10 Uhr 30 Min. vorm. Einer Maus inokuliere ich die Flüssigkeit (schwere Tetanuserscheinungen und Tod während der folgenden Tage); einer anderen Maus impfe ich den Nerv ein (keine Tetanuserscheinungen).

Daraus folgt, daß es, im Gegensatz zu dem, was sich bei der zentralen Nervensubstanz zeigt, die das Tetanustoxin in hohem Grade fixiert, mit Leichtigkeit gelingt, das vom Nerven resorbierte Toxin von ihm zu trennen.

XXIII. Beziehung des Tetanustoxins zu den sensiblen Nerven.

Meyer und Ransom haben untersucht, auf welche Weise sich die sensiblen Nerven gegen das Tetanustoxin verhalten, und die Frage zu lösen versucht, ob das Tetanustoxin vermittelst der sensiblen Nerven zellulipetal zu den Nervenzentren weiterbefördert werden könnte, wenn man das Gift in einen rein sensiblen Nerv, beim Hunde in den N. infraorbitarius, injiziert. Bis zum 13. Tage nach der Injektion des Toxins zeigten sich keine Tetanuserscheinungen; erst nach und nach erschien eine isolierte Kontraktur des Ohres derselben Seite. Bei einem anderen ähnlichen Falle zeigte sich eine isolierte Kontraktur des Kaumuskels erst 11 Tage nach der Inokulation in den N. supraorbitarius. Aus diesen Versuchen schließen die Autoren, daß das Tetanustoxin in den sensiblen Nerven zentripetal weiterbefördert werden könne, jedoch auf viel langsamere Weise als in den motorischen Nerven. — Marie und Morax gelangten zu einer ähnlichen Schlußfolgerung, als sie Tetanustoxin in das subkutane Zellengewebe der Stirngegend beim Hunde injizierten. Wenn die Tetanuserscheinungen deutlich ausgeprägt waren, so schnitten sie den N. ophthalmicus von Willis derselben Seite heraus und impften ihn unter die Haut einer Maus. Diese zeigte nach 24 Stunden einen deutlich ausgeprägten lokalen Tetanus.

Marie und Morax suchten das Tetanustoxin qualitativ und quantitativ in den verschiedenen N. rhachidici, in den Nervenwurzeln sowie in den N. cranici und N. sympathici eines Pferdes. Sie sahen, daß die Aeste, welche das Inokulationsgebiet mit Nerven versehen, das Toxin mit Vorliebe aufnehmen, während die von der Inokulationsstelle weiter entfernten Nerven wenig davon enthalten. Die Neurone des Sympathicus nehmen einen hervorragenden Anteil an der

Resorption des Toxins, wie dies der beträchtliche Gehalt des Sympathicus cervicalis an Toxin beweist. Bemerkenswert ist auch die im N. massetericus enthaltene verhältnismäßig große Menge Toxin, woraus es sich erklären würde, daß beim Pferde als erste Erscheinung der Trismus auftritt.

Die hinteren Wurzeln enthalten weniger Toxin als die vorderen. In den Bündeln der weißen Substanz gelingt es fast nie, die Anwesenheit von Tetanustoxin zu entdecken.

In der weißen Substanz des Lendenmarks wurde eine sehr kleine Menge Gift gefunden, was sich daraus erklärt, wenn man annimmt, daß in dieser Höhe eine Vermischung von Nervenfasern des mit Toxin beladenen peripherischen Neurons mit den Pyramidalbündeln stattfindet.

Von der Lendengegend abgesehen, zeigt sich das Pyramidalbündel stets als nicht toxisch für Mäuse.

Dasselbe kann man von den anderen Strängen des Rückenmarkes sagen.

Die Autoren schließen aus diesen Untersuchungen, der Achsencylinder des cerebralen Neurons enthalte wahrscheinlich kein freies Tetanustoxin, die 3 Arten von peripherischen Neuronen, das motorische, sensible und sympathische seien in gleicher Weise dazu geeignet, das Tetanustoxin zu resorbieren und endlich, die peripherischen Neuronen seien die Kanäle, durch welche das Toxin zu den Nervenzentren gelange.

Anmerkung. Di Vestea und D'Abundo[1]) machten Versuche, die darauf hinzielten, den Weg des Virus der Tollwut längs des Rückenmarkes im Gehirn und kleinen Gehirn zu verfolgen, mit der Absicht, zu entdecken, wie die Infektion in den verschiedenen Gegenden der Zentralnervenorgane des Kaninchens erfolge; durch diese Untersuchungen lieferten sie einen bemerkenswerten Beitrag zum Studium der Verbindungswege innerhalb des Zentralnervensystems.

In der Absicht, den Weg des Tetanustoxins in den Zentralnervenorganen zu verfolgen, begann ich bei Meerschweinchen und Kaninchen ähnliche Untersuchungen, wie sie die oben erwähnten Autoren angestellt hatten.

Aber die außerordentliche Schwierigkeit, das Tetanustoxin in der Zentralnervensubstanz bei Tieren im Laboratorium deutlich nachzuweisen, da ja letztere die Eigenschaft besitzt, das Tetanusgift zu neutralisieren, ermutigte mich nicht zur Forsetzung der erwähnten Experimente.

Durch Injektion von Tetanustoxin in den N. vagus bemerkten Meyer und Ransom eine beträchtliche Verlangsamung der Herztätigkeit, was niemals bei Tieren sich zeigte, die auf andere Weise vergiftet worden waren. Ich will diese Betrachtungen über den Transport des Tetanustoxins zu den Nervenzentren durch die Nerven nicht beendigen, ohne ein sehr beweiskräftiges Experiment von Meyer und Ransom anzuführen. Es gelang ihnen, schwere Tetanuserscheinungen bei einem stark gegen Tetanus immunisierten Kaninchen durch Injektion von Tetanustoxin in den N. ischiadicus hervorzurufen. Zwei Tropfen Blut dieses Tieres enthielten mehr Antitoxin, als dazu erforderlich war, das ganze injizierte Quantum Gift zu neutralisieren. Wenn das Toxin mit dem Antitoxin in Berührung gekommen wäre, so hätte es neutralisiert werden müssen. Stattdessen geschah nichts Derartiges und die Tetanuserscheinungen traten auf.

Aus diesem Experiment glauben die Autoren schließen zu müssen, nicht nur daß das antitoxische Serum, das man einem Tiere subkutan

---

1) Contributo allo studio delle vie di connessione del sistema nervoso merci la rabbia sperimentale. (Annali di Nevrologia. Anno X. 1893. Fasc. 4, 6.)

oder in die Venen injiziert, niemals in die Substanz der Wurzelfäserchen der Nerven und in die Nervenzentren aufgenommen werde, sondern daß auch bei einem stark immunisierten Tiere die Neuronen kein Antitoxin enthalten oder absolut ungeschützt bleiben.

XXIV. Beziehungen des Tetanustoxins zur Lymphe.

Aus den vorausgehenden Experimenten haben wir gesehen, daß, wenn man Tetanustoxin unter die Haut eines empfänglichen Tieres injiziert, das Toxin selbst sehr bald im Blute gefunden wird, wie dies die Tatsache beweist, daß dieses Gift bei Mäusen nachgewiesen wurde. Mithin geschieht die Verteilung des Tetanustoxins in diesem Falle vermittelst des Blutes. Welches ist aber der Anteil, den bei diesem Diffusionsprozeß des Tetanusgiftes die Lymphe nimmt? Mit dieser Frage hat sich in erschöpfender Weise Ransom beschäftigt, der eine sehr sorgfältig durchgeführte Reihe von Experimenten an Hunden machte, indem er nach Eröffnung des Ductus thoracicus Tetanustoxin in die Blutbahn inokulierte oder den Ductus thoracicus einige Stunden nach der Injektion von Toxin in die Blutbahn öffnete.

Nach der Injektion von Toxin in die Venen wurde vergleichend bei Mäusen die Toxizität der Lymphe und des Blutes versucht.

Inokuliert man das Tetanusgift in die Blutbahn eines Hundes, so geht ein ansehnlicher Teil desselben sehr bald in die Lymphe über. Ist der Kreislauf in den Blut- und Lymphgefäßen intakt, so verteilt sich das Tetanustoxin in der Lymphe und im Blute in annähernd gleichen Verhältnissen. Eröffnet man den Ductus thoracicus kurz vor der intravenösen Injektion des Toxins derart, daß die Lymphe ununterbrochen abfließt, so bleibt der toxische Wert des Blutes offenbar höher als derjenige der Lymphe.

XXV. Intravenöse Injektion von Tetanusgift.

Zu wiederholten Malen habe ich die intravenöse Injektion von Tetanustoxin sowohl bei Meerschweinchen als auch bei Kaninchen ausgeführt. Ueber einige dieser Experimente habe ich schon berichtet; ich sehe davon ab, von den anderen ausführlich zu sprechen, da sie kein besonderes Interesse bieten. Nur das will ich anführen, daß man bei direkter Inokulation des Tetanustoxins in das Blut nicht das erhält, was ich bei Besprechung der Injektion unter die Haut und in die Nerven mehrmals unter dem Namen „lokaler Tetanus“ erwähnt habe; es werden vielmehr nach einer Inkubationszeit alle Muskeln gleichzeitig von tetanischen Kontrakturen ergriffen, d. h. man beobachtet von Anfang an einen allgemeinen Tetanus. Wichtig ist die Tatsache, daß eine viel stärkere Dosis Tetanustoxin zur Erregung von Tetanuserscheinungen bei einem Tiere erforderlich ist, wenn man die Injektion in das System des Kreislaufs vornimmt, als erforderlich ist, wenn die Injektion subkutan oder direkt in die Nerven gemacht wird.

Ganz charakteristisch ist das Bild der Tetanusvergiftung bei der Injektion von Toxin in die Venen des Kaninchens. Ehe die Krankheitserscheinungen auftreten, die im allgemeinen erst nach 2—3 Tagen hervortreten, zeigt sich das Tier nur etwas in seinen Bewegungen gehindert; dann tritt eine allgemeine Starre ein, die in diesem Falle das ganze Krankheitsbild beherrscht. In diesem Augenblick ist das Tier vollständig starr geworden, mit aufgerichteten Ohren, gespanntem Halse, steifen Beinen, dergestalt, daß der Bauch den Boden nicht mehr berühren kann;

legt man das Tier auf eine Seite, so gelingt es ihm auf keine Weise, sich wieder auf die Beine zu stellen. Die Krampfanfälle sind selten, nicht sehr intensiv und werden nur durch sehr starke Erregungen hervorgerufen.

Die intraperitoneale Injektion von Tetanustoxin erregt auf dieselbe Weise wie die intravenöse Injektion von Anfang an einen allgemeinen Tetanus.

XXVI. Pathologische Anatomie des Tetanus.

Zur Vervollständigung meiner Untersuchungen über die Bahnen, auf denen das Tetanustoxin zu den Nervenzentren weitergeleitet wird, glaubte ich, es werde nicht ganz uninteressant sein, einige histologische Untersuchungen namentlich bezüglich des Rückenmarkes und der peripherischen Nerven der mit Tetanustoxin inokulierten Tiere anzustellen. Der Darlegung der Resultate dieser Untersuchungen will ich einen kurzen historischen Hinweis in Bezug auf dieses Thema vorausschicken. Brunner behauptet in seiner Monographie über den Tetanus, die er im Jahre 1894 veröffentlichte, bei dieser schweren Intoxikationskrankheit seien trotz der im Leben vorhandenen schweren nervösen Erscheinungen die anatomischen Befunde in den Zentralnervenorganen unsicher, und im allgemeinen negativ. Bei den dürftigen Methoden, über welche die histologische Technik zu jener Zeit verfügte, war es nicht möglich, weder im Rückenmark noch im Gehirn, noch auch in den peripherischen Nerven irgend eine pathologische Veränderung nachzuweisen. In der Folge erst bemerkte Monakow bei Anwendung der Färbung durch Karmin im Zentralnervensystem Kongestion der Gefäße, Hämorrhagie und Anhäufung von Kernen und Körnchen, namentlich in den Ganglienzellen des N. facialis.

Die ersten beachtenswerten Resultate in betreff dieser Frage erhielt man, als man behufs Untersuchung der Zentralnervenorgane tetanischer Tiere die Nisslsche Methode zur Anwendung brachte. Beck, der sich derselben zuerst bediente, fand hochgradige Gehirnerweichung und homogene Anschwellung der Nervenzellen.

Im Jahre 1897 erschienen die Untersuchungen von Marinesco, der bei den mit Tetanustoxin inokulierten Meerschweinchen Hämorrhagieen antraf, in der grauen Substanz des Rückenmarkes und beträchtliche Veränderungen der Zellen der Vorderhörner; sie bestanden in der Tatsache, daß ein Teil der Zelle, und sogar die ganze Zelle ein undurchsichtiges Aussehen darbot, ein intensive Färbung des Achsencylinders, der sich leicht körnerhaltig zeigte; die Protoplasmafortsätze zeigten Krümmungen und hatten die Nisslschen Körperchen verloren. Der Kern war etwas umfangreicher, er nahm die Farbe in diffuser Weise an und zeigte unregelmäßige Umrisse. Es ist jedoch hervorzuheben, daß Marinesco diese Läsionen nur bei den Tieren fand, die er selber getötet hatte, nicht bei Tieren, die spontan infolge Inokulation des Toxins verendet waren.

Nach Nissl ist der Kern der Nervenzellen von tetanischen Tieren kleiner, winkliger und homogener. Die Modifikationen des Zellkörpers sind im allgemeinen Neigung zum Verschwinden von Teilen der Substanz und Vakuolisation der Zelle, die in einem vorgerückten Stadium nicht mehr wiederzuerkennen ist.

Besonders interessant sind die Untersuchungen von Goldscheider und Flatau, die bei einer sehr beträchtlichen Anzahl von Tieren in

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

eingehender Weise die Veränderungen der motorischen Zellen des Zentralnervensystems mit besonderer Rücksicht auf die verschiedenen Abschnitte des Rückenmarkes studiert haben, indem sie verdünnte und konzentrierte Lösungen von Toxin verwendeten. Sie betrachten die angetroffenen Veränderungen als charakteristisch für die Tetanusvergiftung in Anbetracht des konstant gleichen Befundes, den sie erhielten; dagegen konnten sie bei Anwendung von Einflüssen von anderer Beschaffenheit niemals ähnliche Vorgänge beobachten. Endlich bringen die Autoren die Vergiftungssymptome in Beziehung zu den morphologischen Veränderungen der Zellen und glauben über das Wesen derselben kein entscheidendes Urteil abgeben zu können.

De Buck und Moor fanden bei tetanischen Kaninchen eine stärkere Färbung der protoplasmatischen Fortsätze; im Innern der Zelle stießen sie auf Spaltungen und Vakuolen. Hunter, Westphal, Goebel, Téchontre, Matthes und andere beobachteten ungefähr dieselben Tatsachen. — Donetti bemerkte Entzündungen der periependymischen Substanz, Atrophie und Zerstörung der Zellen der Vorderhörner.

Tauber traf in einem Falle von Tetanus beim Menschen niemals Anschwellungen der Nisslschen Körperchen. An der Peripherie der Zellen fand er oft Granulationen, in vielen Zellen Vakuolen. — Rispal beobachtete in einem Falle von Tetanus beim Menschen hyaline Metamorphose des Protoplasmas der Nervenzellen mit Deformation des Kernes oder ähnliche Veränderungen wie die bei der experimentellen Hyperthermie beobachteten.

Preobrajensky konnte in einem Falle von Tetanus infolge Verwundung des Augenlides, der nach 5 Tagen der Tod folgte, diffuse Chromatolyse mit Bildung von Vakuolen beobachten, sowie Anschwellung des Kernes, der sich gegen den Rand der Zelle verschoben hatte; verschiedene Grade von Degeneration der Zellen, Anschwellung der Zellen namentlich in den Clarkeschen Säulen. Der Autor versichert, daß die Veränderungen der Zellen in diesem Falle von Tetanus bulbaris denjenigen ähnlich waren, welche die anderen Autoren beim Rückenmark beschrieben haben.

Swiecinsky bemerkte außer den von den anderen betonten Tatsachen eine enorme Wucherung der Glia im Rückenmark. Daddi traf namentlich schwere Veränderungen im Kleinhirn, die intervertebralen Ganglien dagegen in normalem Zustand. In allerneuster Zeit traf Zinno bei Untersuchung der Nervenzentren tetanischer Tiere vermittelst nicht so genauer Methoden die von den anderen Autoren beobachteten banalen Läsionen nicht konstant und nicht spezifisch; als er aber eine sorgfältigere Technik anwandte, beobachtete er einige zunächst den chromatophilen Körper und fast gleichzeitig das Centrosom und das Kernkörperchen betreffende Läsionen, die sich dann auf das Cytoplasma und endlich auf die Fortsätze ausbreiteten. Glia und Nervenfasern wenig verletzt und gewöhnlich nur in weit vorgerückten Phasen. Abgesehen von der anfangs auftretenden Karyolyse, leistet der Kern den Zerstörungsprozessen großen Widerstand.

Ich will mich hier darauf beschränken, über die Läsionen zu berichten, die ich namentlich in den motorischen Zellen des Rückenmarkes der von mir mit Tetanustoxin geimpften Meerschweinchen und Kaninchen angetroffen habe. Ich untersuchte immer den cervikalen, dorsalen und lumbalen Abschnitt des Rückenmarkes, indem ich das Nervensystem unmittelbar nach dem Tode des Tieres entfernte oder letzteres tötete, wenn es schwere Erscheinungen von allgemeinem Tetanus aufwies. Die Stücke fixierte ich in einer Flüssigkeit, die aus einer gesättigten Pikrinsäurelösung und einer gesättigten Lösung von Sublimat in gleichen Teilen bestand. Zur Färbung bediente ich mich der Nisslschen Methode. Die konstantesten von mir angetroffenen Veränderungen waren die folgenden: Vergrößerung der Nisslschen Körperchen und Zerfall der letzteren, die bisweilen ein fein granulöses Aussehen annehmen. Der Zerbröckelung der Nisslschen Körperchen (Fig. 2) geht gewöhnlich ihr Anschwellen voraus; zuweilen aber bezeichnet sie die anfängliche Läsion der Zelle. Mitunter regenerieren nach der fein granulösen Zerstörung der Nisslschen Körperchen die letzteren sich wieder, wobei sie jedoch eine etwas eckige Gestalt annehmen; mit dieser Tatsache findet oft gleichzeitig eine Anschwellung der ganzen Zelle statt. Auch die Körperchen des Kernes sind angeschwollen und nehmen oft eine verlängerte Gestalt an. Die körnige Zerstörung der Nisslschen Körperchen (Fig. 3) erschien mir gesteigert in den Fällen, in welchen ich höhere Dosen von Toxin verwendete, sowie wenn die Tetanuserscheinungen sehr intensiv waren und einige Tage andauerten. Ich traf sie fast nie an, wenn ich die Tiere beim ersten Auftreten der Tetanuserscheinungen tötete. Sowohl das Anschwellen der Kernkörperchen als auch das der Nisslschen Körperchen trat um so anhaltender auf, je schneller der Prozeß durch Verwendung starker Dosen von Toxin verläuft. Eine Tatsache, die ich oft zu beobachten Gelegenheit hatte, auch bei sehr schwer verlaufenden Fällen, ist die, daß sich neben stark veränderten Zellen andere finden, in denen die Veränderungen leicht sind, und endlich wieder andere von normalem Aussehen. Die Zellen der Meerschweinchen schienen mir fast stets mehr verändert als die Zellen der Kaninchen.

In anderen Fällen erlangen die Zellen ein homogenes Aussehen und sind nicht mehr wiederzuerkennen; in anderen (Fig. 4) bemerkt man das Vorhandensein zahlreicher und großer Vakuolen. Eine andere Tatsache, auf die ich die Aufmerksamkeit lenken möchte, weil ich sie in einer gewissen Häufigkeit angetroffen habe, ist die, daß man bisweilen um stark veränderte Nervenzellen herum in mäßiger Anzahl Gliakerne antrifft. Mitunter lehnen die letzteren sich einfach an die Nervenzelle an, dann wieder (Fig. 5) finden sie sich im Innern des Zellkörpers. Meiner Ansicht nach ist diese Tatsache nicht als ein aktiver Vorgang zu erklären, wie es Marinesco möchte, in dem Sinne, daß die Gliazellen hauptsächlich die Nervenzellen anfallen und zerstören, sondern ich glaube vielmehr, daß die letzteren, wenn sie stark verändert und dem Absterben nahe sind, als Reiz auf die Gliazellen einwirken und ihre Anhäufung um sich herum, sowie allmählich das Eindringen in ihr Inneres verursachen.

Aus dem hier in Kürze angeführten Befund kann man meines Erachtens zu der Schlußfolgerung gelangen, daß durch Einwirkung des Tetanustoxins deutliche und konstante Veränderungen in den motorischen Nervenzellen stattfinden. Diese Veränderungen sind jedoch nicht absolut spezifisch für den Tetanus, da es vorkommt, daß man ihnen bei anderen Intoxikationen begegnet, bei einigen Infektionen und auch bei einigen Geisteskrankheiten, und sie stehen sicherlich in keiner nachweislichen Beziehung zu den klinischen Erscheinungen des Tetanus.

Die jüngsten Untersuchungen über die peripherischen Nerven beim Tetanus haben bewiesen, daß ihre Veränderungem nicht so konstant

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

sind, daß sie einer pathogenetischen Erklärung des klinischen Krankheitsbildes zur Grundlage dienen könnten. Die sogenannte „neuritische Theorie des Tetanus“ stützte sich hauptsächlich auf die alten makroskopischen Beobachtungen von Larrey, Friedreich, Froriep, Remak u. a., die eine mehr oder weniger ausgeprägte Entzündung der Nerven zwischen dem Eintrittsort der Infektion und dem Rückenmark beobachtet hatten.

Die allmählich angestellten mikroskopischen Beobachtungen ergaben zuweilen einen positiven Befund, mitunter wiesen sie nur leichte Veränderungen nach, in anderen Fällen war der Befund wieder durchaus negativ. Die beobachteten Veränderungen beziehen sich namentlich auf die Nervenstämme in nächster Nähe der Wunde, auf die Tetanus übertragen wurde.

Arloing und Tripier fanden in einem Falle bei einer durch Tetanus komplizierten Wunde entsprechend dem Kopfe des Wadenbeines Neuritis des N. popliteus externus; der N. ischiadicus war nicht im geringsten verändert. Michaud fand in einer Schenkelwunde Neuritis des N. ischiadicus. Laveran beobachtete in einer komplizierten Fraktur des Fußes eine aufsteigende Neuritis des N. tibialis. Pitres und Vaillard trafen in einem Falle, in dem schwere Verbrennungen der Hand und des Schenkels vorlagen, diffuse Parenchymveränderungen der entsprechenden Nerven, die nach oben hin weniger intensiv waren.

Achard untersuchte 4 Fälle von Tetanus; bei 3 derselben beobachtete er nur Degenerationen von wenigen Fasern der entsprechenden Nerven, bei einem anderen, in welchem der N. medianus und der N. ulnaris vollständig durchschnitten waren und der Tod nach 3 Wochen eintrat, waren im N. cubitalis 4 cm oberhalb der Stelle der Verletzung fast alle Fasern degeneriert, während im N. medianus 5 cm weiter oben der größte Teil der Fasern intakt war. Achard ist dazu geneigt, solche Degenerationen als sekundär zu betrachten.

Bonome fand in 2 Fällen außer sehr starken myelitischen Veränderungen des Rückenmarkes auch Degenerationserscheinungen in der Cauda equina.

Diesen positiven Befunden stehen nicht wenige Fälle gegenüber, in denen eine genaue mikroskopische Untersuchung der Nerven keine Läsion bei ihnen nachwies. Negative Befunde erhielten Joffroy, Poncet, Michaud, Pitres und Vaillard. Diese Forscher versicherten, das Tetanustoxin könne das Rückenmark auf dem hämatogenen Wege erreichen, ohne sich längs der Lymphscheiden auszubreiten.

Höchstwahrscheinlich werden die Veränderungen der Nerven in Fällen von Tetanus durch die die Verwundung begleitenden Infektionen hervorgerufen unter dem Bilde einer aufsteigenden Neuritis, da sie ja namentlich in den Fällen von schweren und eitrigen Wunden auftreten. Auch ist es wahrscheinlich, daß, wenn der Verlauf der Krankheit lange genug ist, infolge der myelitischen Veränderungen, Veränderungen der peripherischen Nerven eintreten. Von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, sind die von Bonome geschilderten Fälle besonders beweiskräftig, weil bei ihnen die Veränderungen der Nerven dem Gebiet der schwersten Veränderungen des Markes entsprachen. Wenn die peripherischen Wunden schnell heilen oder leicht sind, oder wenn die Krankheit schnell zum Tode führt, so sind die Veränderungen der Nerven sehr undeutlich ausgeprägt oder sie fehlen ganz.

Zur Untersuchung der Nerven der mit Tetanustoxin inokulierten

Tiere bediente ich mich anfangs der gebräuchlichen Färbungsmethoden vermittelst Karmin und Hämatoxylin. Da ich aber mit Hilfe dieser Methoden nichts Besonderes erreicht hatte, wollte ich es mit einigen anderen neueren versuchen und richtete meine Aufmerksamkeit namentlich auf die Untersuchung des Achsencylinders, um zu sehen, ob das Tetanustoxin während seines Weges längs desselben irgend welche Veränderungen darin verursache. In hervorragendem Maße bediente ich mich der Methode von Mönckeberg und Bethe zur Färbung der Neurofibrillen; diese Methode will ich hier in Kürze schildern: Fixierung des Nerven in 0,25-proz. Osmiumsäure während 24 Stunden, 4—6-stündige Waschung, Alkohol bei 90°, 10 Stunden oder länger. 4 Stunden in destilliertem Wasser; hierauf 6—12 Stunden in 2-proz. Lösung in Natriumbisulfit, der 2—4 Tropfen Salzsäure auf 10 ccm hinzugesetzt worden sind. Waschung in Wasser, Einbettung in Paraffin, Färbung mit 0,1 Proz. Toluidinblau und Durchgang durch 1-proz. Ammoniummolybdatlösung. Waschung, Alkohol—Xylol—Balsam.

Ich muß jedoch sagen, daß, obgleich ich zahlreiche Präparate nach dieser Methode herrichtete, nur sehr wenige mir einigermaßen befriedigende Resultate ergaben. In der Mehrzahl der Fälle verdeckt die durch die Osmiumsäure stark schwarz gefärbte Markscheide den Achsencylinder vollständig, und wenn man das Glück hat, durch Anlegung von sehr feinen Schnitten sie bei einigen Fasern bloßzulegen, so folgt man den Neurofibrillen nur auf einer sehr kurzen Strecke. In den wenigen Fällen, in denen dieser glückliche Umstand eintrat, schien es mir, daß die Neurofibrillen der Nerven tetanischer Tiere sich in keiner Hinsicht durch ihr Aussehen, ihre Anordnung und ihre Färbbarkeit von den Nerverfäserchen normaler Tiere unterschieden.

Mir schien es sehr interessant, zu untersuchen, auf welche Weise sich die sogenannte primäre Färbbarkeit der Neurofibrillen und der Ganglienzellen des Rückenmarkes bei den mit Tetanustoxin geimpften Meerschweinchen und Kaninchen verhält.

XXVII. Die primäre Färbbarkeit in den Nerven tetanischer Tiere.

Unter primärer Färbbarkeit versteht Bethe die Eigenschaft der Gewebe, durch die basischen Farben ganz frisch oder nach einfacher Dishydration gefärbt zu werden, folglich ohne Anwendung irgend eines Aetzwassers oder einer anderen Substanz, welche die chemische Struktur des Gewebes ändert. Auf diese Weise werden in den Nervenzellen zwei Substanzen gefärbt, diejenige, welche den Nisslschen chromatischen Teil bildet und ein andere, die innig mit den Nervenfäserchen verbunden ist. In den Nerven trifft man natürlich nur diese letztere an. Bethe nimmt an, diese beiden Substanzen seien voneinander verschieden, hätten aber den sauren Charakter miteinander gemeinsam. Die Bedeutung der sauren Substanz der chromatischen Klumpen ist bekannt, da ihre morphologischen Einrichtungen in den letzten Jahren der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen waren. Auch die saure Substanz der Fäserchen ist von hervorragender Bedeutung und mit ihrem Verschwinden fällt nach Bethe zusammen das Verschwinden der physiologischen Erregbarkeit. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß, während man vermittelst der Fixierung in Alkohol die primäre Färbbarkeit der Nerven deutlich nachweisen kann, sich dies bezüglich der Nervenzentren nicht nachweisen läßt. Daraus folgert Bethe, im Nervensystem existiere oder bilde sich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

nach dem Tode eine Substanz, welche die Säure der Fäserchen der Zentralnervenelemente löslich mache. Das Vorhandensein der Säure in Nervenfäserchen läßt sich auch in den Zentren nachweisen, auch dann, wenn die Säure auf chemischem Wege von den Fäserchen getrennt in Alkohol löslich wird, indem man bei der Fixierung oder Dishydration Aether verwendet, Ammoniakalkohol oder, wie sich aus den Experimenten Lugaros ergibt, Pyridin. Letzteres habe ich fast ausschließlich verwendet bei der Untersuchung der primären Färbbarkeit der Nervenzellen und namentlich des Rückenmarkes. Ich ließ die Stücke des Markes höchstens 48 Stunden in Pyridin liegen, schloß in Paraffin ein und färbte die Abschnitte mit einer gesättigten Lösung von Toluidinblau.

Bei den vermittelst dieser Technik angefertigten Präparaten aus Rückenmark bemerkte ich dieselben Erscheinungen, die ich schon bei Anwendung der Nisslschen Methode beschrieben habe; namentlich gelang mir die Diffusion der chromatischen Klumpen ausgezeichnet. — Wie mir schien, erlitt die primäre Färbbarkeit der Nervenzellen bei tetanischen Tieren keine besondere Veränderung. Bei den peripherischen Nerven dagegen bemerkte ich eine Tatsache, die mir wegen ihres konstanten Auftretens, das ich stets beobachten konnte, wahrhaft beachtenswert erscheint. Während sich bei vielen Nervenfasern der Achsencylinder sehr intensiv blau färbt, wie bei den normalen Nerven (Fig. 7), färbt sie sich dagegen bei anderen gar nicht. Um den Fall auszuschließen, daß diese Tatsache Mängeln der Technik zuzuschreiben sei, legte ich auf einem und demselben Deckglase Abschnitte eines Nerven von einem normalen Kaninchen und solche von einem tetanischen Kaninchen auf, indem ich sie, um sie nicht zu verwechseln, nach verschiedenen Richtungen hin anbrachte. Dies tat ich, damit, da die erwähnten Abschnitte einer und derselben Behandlung unterzogen wurden, wenn die oben angeführte Erscheinung von neuem auftreten sollte, der Einfluß der zur Herrichtung des Präparates nötigen Manipulationen vollständig ausgeschlossen werden könnte. Auch als ich auf diese Weise zu Werke ging, konnte ich den oben erwähnten Befund bestätigen, d. h. einen merklichen Unterschied in der Art und Weise, wie sich die primäre Färbbarkeit bei den verschiedenen Fasern eines und derselben Nerven beim tetanischen Tiere darstellte. Aus diesem Grunde scheint es mir, daß man mit aller Wahrscheinlichkeit annehmen kann, daß diese Tatsache abhängig ist von Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Neurofibrillen, Veränderungen, die durch das Tetanustoxin während seiner Weiterbeförderung den Nerven entlang hervorgerufen werden. Aber die sichere Bestätigung der Sache und die Erklärung des Umstandes, weshalb einige Fasern eines und desselben Nerven die primäre Färbbarkeit unverändert zeigen, wird man erst dann geben können, wenn man eine beträchtliche Anzahl von systematischen Beobachtungen ausgeführt hat, und das beabsichtige ich in einer möglichst bald erscheinenden Arbeit zu tun, da ich von der Bedeutung überzeugt bin, welche die von mir soeben erwähnte Erscheinung gewinnen müßte, sobald sie in ausgedehntem Maße bestätigt würde.

XXVIII. Mechanismus der Kontraktur bei Tetanus.

Auf Grund meiner Experimente, die größtenteils diejenigen der früheren Beobachter bestätigen, kann man mit Sicherheit die Schlußfolgerungen ziehen, daß das Tetanustoxin, wenn man einem dafür empfänglichen Tiere subkutan eine Lösung desselben injiziert, größtenteils in die Lymphgefäße und von ihnen aus in das Blut gelangt; ein geringerer Teil wird von den Ausläufern der motorischen Nerven in den Muskeln aufgenommen und diese leiten es dann weiter zu den motorischen Ganglien des Rückenmarkes. Ist das Toxin in den letzteren angekommen, so entfaltet es seine Wirkungen und es zeigen sich die charakteristischen Erscheinungen des Tetanus. Welches ist aber der innerste Mechanismus, durch den die experimentelle Vergiftung durch Tetanus erklärt wird?

Wenn ich von allen Hypothesen absehe, die in vergangener Zeit zu dem Zweck aufgestellt worden sind, um den Mechanismus der Kontraktur bei Tetanus zu erklären, so scheint mir, daß daß die in letzter Zeit von Meyer und Ransom aufgestellte Theorie die vernünftigste ist, da sie auf einer reichhaltigen Folge von experimentellen Tatsachen aufgebaut ist.

Nach der Ansicht dieser Autoren werden die Spinalganglien in einen Zustand der Hyperexcitabilität versetzt, so daß sie vermöge der permanent von den sensitiven Neuronen her andringenden Reize aktiv erregt und zu einer ununterbrochenen Ausströmung von Energie gezwungen werden. Aus der Physiologie ist bekannt, daß auch unter normalen Verhältnissen die sensitiven Reize die bestimmende Ursache der kleinen ununterbrochenen motorischen Reize sind, deren Wirkung unter dem Namen Muskeltonus bekannt ist. Diese Ausströmung ist bei der Tetanusvergiftung abnorm stark, erreicht aber dennoch nicht den höchsten Grad; das Glied, in dem sich die Tetanuserscheinungen entwickeln, wird nicht sofort zu einem Zustand der Hyperextension gezwungen, sondern die Extensoren und Flexoren ziehen sich langsam und mäßig zusammen. Im weiteren Verlauf erhalten die ersteren das Uebergewicht und bringen allmählich das Glied in die Extensionsstellung, die durch jeden Impuls des Wollens oder jede reflektive Handlung gesteigert werden kann. Mit anderen Worten, die Kontraktur beim Tetanus wäre nichts anderes als der Ausdruck des abnormen und stets zunehmenden Muskeltonus. Wie nun aber nach Hering jeder motorische Impuls peripherischen Ursprunges ist, so ist auch die Kontraktur beim Tetanus abhängig von sensiblen Reizen; hier besteht jedoch eine pathologische Veränderung der motorischen Apparate des Rückenmarkes, die auch in ihrer Wirkung streng lokalisiert ist.

Nachdem das Tetanusgift seine Wirkung auf die Ganglienzellen ausgeübt hat, mit denen es gleich im Anfang in Berührung kommt, wandert es weiter in den Strängen des Rückenmarkes und geht, indem es zuerst dem direkten Verbindungswege der Commissura anterior folgt, in die motorischen Apparate der anderen Seite über, was die Kontraktur des Gliedes zur Folge hat, das demjenigen entgegengesetzt liegt, in welches das Toxin injiziert wurde. Erst nach einer gewissen Zeit greift das Tetanustoxin die taktilen Apparate des reflexen Bogens im Rückenmark an; darauf folgt eine allgemeine Uebertreibung der Reflexe auf Reizung des kranken Gliedes oder seiner Nervenstämme. Wenn das Gift sich noch weiter ausbreitet, so entstehen Kontrakturen fast aller gestreiften Muskeln und allgemeiner reflexer Tetanus.

Es handelt sich mithin bei den Warmblütern um zwei in Bezug auf Zeit und Ort verschiedene Vorgänge im Rückenmark; der erste ist eine lokale motorische Intoxikation, welche die lokale Kontraktur der Muskeln bewirkt; der zweite ist eine lokale sensible Vergiftung, der reflexive Tetanus. Fand die Vergiftung auf dem Blutwege statt, so dringt das Toxin in alle motorischen Ausläufer ein und der Tetanus ist, wie ich schon anderswo bemerkt habe, von Anfang an ein allgemeiner.

Aus der Gesamtheit der von mir gemachten Experimente lassen sich die folgenden Schlußfolgerungen ziehen:

1. Injiziert man Tetanustoxin subkutan bei einem empfänglichen Tier, so geht ersteres größtenteils in die Lymphgefäße über und von diesen aus in das Blut; zum geringeren Teile wird es von den Nervenendigungen resorbiert und wird durch diese zu den Nervenzentren weitergeleitet. Nach hypodermischer Injektion von Tetanustoxin in ein Glied ist das Toxin konstant in den Nervenstämmen des Gliedes selbst nachweisbar.

2. Der Transport des Tetanustoxins zu den Nervenzentren durch die Nerven findet statt nicht durch die Lymphwege der Nerven selbst, sondern im Plasma der Nervenfasern, aus denen der Achsencylinder besteht. Damit die Nervenfasern im stande sind, das Tetanustoxin aufzunehmen und es zu den Nervenzentren weiterzuleiten, ist es nötig, daß der Achsencylinder ihre normale Integrität besitzt.

3. Dem Achsencylinder entlang läuft der Strom des Giftes nur in zellulopetaler Richtung. Das Tetanustoxin verschiebt sich nach der Nervenzelle hin, wahrscheinlich weil letztere auf das Tetanusgift, mit dem die Nervenfasern durchtränkt werden, eine Anziehung ausübt.

4. Injiziert man in einen Muskel Tetanustoxin, so breitet es sich in der den Muskel selbst umspülenden serösen Flüssigkeit aus und wird, nachdem es von den Endigungen der in den Muskeln befindlichen Nerven resorbiert worden ist, vermittelst der Nerven zu den Zentren weitergeleitet.

5. Das in die Wadenmuskeln eines Meerschweinchens inokulierte Tetanustoxin trifft man im entsprechenden Ischiadicus in beträchtlichen Dosen erst $1^1/_2$ Stunde nach der Injektion an, während man es viel schneller im Blute antrifft (schon nach 10 Min.).

6. Es genügen minimale Dosen von Tetanustoxin, um schwere Tetanuserscheinungen hervorzurufen, wenn die Injektion direkt in das Parenchym der Nerven erfolgt. Dieselben Dosen rufen, wenn sie unter die Haut oder in den Kreislauf injiziert werden, keine Tetanuserscheinungen hervor.

7. Injiziert man Tetanusantitoxin in einen Nervenstamm und inokuliert hierauf Tetanustoxin in die durch den erwähnten Stamm innervierten Muskeln, so gelingt es, den Zutritt des Toxins zu den entsprechenden Nervenzentren zu verhindern, und man bemerkt deshalb keine Tetanuserscheinungen irgend welcher Art in dem bezüglichen Muskelgebiet.

8. Das direkt in einen Nerven inokulierte Tetanustoxin hat keinen anderen Weg der Uebertragung auf die Nervenzentren als die Substanz des Nerven selbst, wie dies die Tatsache beweist, daß man durch Unterbrechung des Rückenmarkes an einem bestimmten Punkte die Wirkungen des Toxins auf den in Verbindung mit dem Sitz der Einimpfung stehenden Abschnitt des Rückenmarkes beschränken und die Verbreitung des Toxins in den oberen Regionen des Rückenmarkes selbst verhindern kann.

9. In den durch Durchschneidung der entsprechenden Nervenstämme ihrer Innervation vollständig beraubten Muskeln zeigen sich keine Tetanuserscheinungen infolge subkutaner Inokulation von Tetanustoxin.

10. Wenn man Tetanustoxin direkt in die Substanz des Rücken-

markes injiziert, so erhält man eine beträchtliche Abkürzung des Inkubationsstadiums und es zeigt sich ein besonderes durch den Namen Tetanus dolorosus charakterisiertes Krankheitsbild.

11. Injiziert man Tetanustoxin in den Kreislauf, so werden nach einem mehr oder weniger langen Inkubationsstadium, je nach der betreffenden Tiergattung, alle Muskeln gleichzeitig von tetanischen Kontrakturen ergriffen, weil das Toxin des Tetanus von allen Nervenästen gleichzeitig resorbiert und zu den Nervenzentren weitergeleitet wird.

In diesem Falle fehlt der sogenannte lokale Tetanus, den man beobachtet, wenn das Toxin unter die Haut oder in das Parenchym eines Nerven injiziert wird. Es ist eine viel stärkere Dosis von Toxin erforderlich, um bei einem Tiere Tetanuserscheinungen hervorzurufen, wenn man die Injektion in den Kreislauf macht, als nötig ist, wenn man sie subkutan oder direkt in die Nervenstränge vornimmt.

12. Das in die Blutbahn injizierte Tetanustoxin geht schnell in die Lymphe über. In der cerebrospinalen Flüssigkeit kann das Tetanusgift nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Literatur.

Achard, Notes sur les lésions des nerfs dans le tétanos. (Arch. de médec. expér. 1892.)
Babes, Recherches sur le tétanos. (Annal. de l'Inst. de Path. de Bukarest. Vol. V. 1892—1893.
Babes und Puscarin, Versuche über Tetanus. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII. 1890.)
Beck, Die Veränderungen der Zellen beim experimentellen Tetanus. (Ref. im Neurolog. Centralbl. 1894. p. 900.)
Behring, Ueber die quantitativen Bindungsverhältnisse zwischen Tetanusgift und Tetanusantitoxin. (Fortschritte der Med. 1899.)
—, Ueber Tetanusgiftmodifikationen. (Fortschritte der Med. 1899.)
—, Beiträge zur experimentellen Therapie. Marburg 1904.
Behring und Ransom, Ueber Tetanusgift und Tetanusantitoxin. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 12.)
Besredka, De la fixation de la toxine tétanique par le cerveau. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. p. 138.)
Bethe, Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems. Leipzig 1903.
Binot, Étude expérim. sur le tétanos. Paris (Steinheil) 1899.
Blumenthal, Klinische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis des Tetanus. (Zeitschr. f. klin. Mediz. 1896. p. 538.)
—, Ibidem. 1897. p. 325, 379.)
—, Ueber die Veränderungen des Tetanusgiftes etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 12.)
Bonome, Alterazioni del midollo spinale nel Tetano. (Arch. p. le scienze mediche. 1891.)
Brieger und Boer, Ueber die Toxine der Diphtherie und des Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 49.)
Brieger und Cohn, Untersuchungen über das Tetanusgift. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV.)
Brunner, Experimentelle und klinische Studien über den Kopftetanus. (Beitr. z. klin. Chirurg. 1892.)
—, Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 427.
—, Deutsche med. Wochenschr. 1894. p. 100.
—, Experimentelle und klinische Studien über Tetanus. Tübingen 1894.
—, Zeitschr. f. klin. Med. 1896. p. 367.
—, Zeitschr. f. klin. Med. 1897. p. 207.
Bruschettini, Riforma medica 1892.
Chantemesse et Marinesco, Tétanos et cellules nerveuses. (Gazette des Hôpitaux. 1898. No. 13.)
Claude, Compte rendu de la Soc. de Biol. 1897. No. 1.
Collina, Gazetta degli ospedali. 1902. No. 33.
Corradi, L'azione biologica delle tossine del tetano. Milano 1898.
Courmont et Doyon, Le tétanos. Paris (Baillière et fils) 1899. [Enthält eine umfassende Bibliographie.]

Danysz, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. No. 2. p. 156.
De Buck et de Moor, Journal de Neurologie. 1899.
Dimitriewsky, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. No. 2. p. 148.
Di Vestea und Zagari, Fortschritte der Medizin. 1889. p. 257.
Dopter, Le tétanos. (Gazette des Hôpitaux. 1900. No. 49.)
Faber, Die Pathogenese des Tetanus. (Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 31.)
Fermi und Celli, Beitrag zur Kenntnis des Tetanusgiftes. (Centralbl. f. Bakt. 1892.)
Fermi e Pernossi, Annali dell'Inst. d'Igiene. Roma 1894. p. 1—57.
Flatau, Pathologische Anatomie des Tetanus. (Handbuch der pathologischen Anatomie des Nervensystems. Berlin 1904. Bd. II. [Enthält viel Literatur.])
Goebel, Monatschr. f. Psychiatr. Bd. III. 1898.
Goldscheider, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXVII. Heft 1 u. 2.
Goldscheider und Flatau, Deutsche med. Wochenschr. 1897. p. 129, und Fortschritte d. Med. 1897. p. 609.
Gumprecht, Zur Pathogenese des Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1894.)
—, Versuche über die physiologische Wirkung des Tetanusgiftes im Organismus. (Arch. f. Physiologie. Bd. LIX. Heft 3—4. [Enthält viel Literatur.])
Hunter, A note on the microscopic appearances of the spinal in tetanus. (British med. Journal. 1897. p. 333.)
Jankowsky, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. p. 464.
Kallmeyer, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 4. p. 71.
Kartulis, Untersuchungen über das Verhalten des Tetanusgiftes im Körper. [Inaug.-Diss.] 8°. 30 p. Berlin 1893.
Kitasato, Zeitschr. f. Hygiene. 1889. p. 225.
—, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. X. 1891. Heft 2.
—, Allgemeine Wiener med. Zeitung. 1889. No. 20.
—, Arch. f. klin. Chirurg. 1889. p. 423.
Knorr, Fortschritte der Medizin. 1897. No. 17.
—, Münch. med. Wochenschr. 1899. p. 321, 362.
Lambert, New York med. Journal. 1897. No. 23. p. 754.
Leiden und Blumenthal, Der Tetanus. (Spez. Pathol. u. Therap., herausg. von Nothnagel. Bd. V. Teil 2.) Wien (Hölder) 1900. [Enthält viel Literatur.]
Lugaro, Handbuch der pathologischen Anatomie des Nervensystems. Berlin 1904. (S. das Kapitel: Pathol. Anatomie der periph. Nerven.)
Madsen, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXII. 1899. Heft 2.
Marie, Recherches sur la toxine tétanique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.)
—, Recherches sur les propriétés antitétaniques des centres nerveux de l'animal sain. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.)
Marie et Morax, Recherches sur l'absorption de la toxine tétanique. (Ann. de l'Institut Pasteur. 1902.)
— —, Recherches sur l'absorption de la toxine tétanique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903. p. 335.)
Marinesco, Pathologie de la cellule nerveuse. Paris 1897.
Marx, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL. Heft 2.
Meyer, H., Tetanusstudien. (Festschrift f. Jaffé. 1901.)
—, Ueber motorischen und dolorosen Tetanus. (Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Bef. d. Naturw. Marburg 1902.)
Meyer und Ransom, Untersuchungen über den Tetanus. (Arch. f. experiment. Path. u. Pharmakol. Bd. XLIX. Heft 6.)
— —, Ergebnisse der Physiologie. Bd. II. 1902. p. 206.
Milchner, Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 17.
Milian et Legros, Compt. rend. de la Soc. de Biolog. 1901. No. 13. p. 382.
Myamato, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 30.
Mönckeberg und Bethe, Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. LIV. 1899.
v. Moschowitz, Annals of surgery 1900. Aug. Oct. p. 219, 575.
Mosse, Experimentelle Bleikolik. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 12.)
Nageotte et Ettlinger, La semaine médicale. 1898. p. 287.
Nerlich, Arch. f. Psych. Bd. XXIII. 1892. No. 3. p. 672.
Nicolaier, Virchows Archiv. Bd. CXXVIII. Heft 1.
Nissen, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 24.
Oppenheimer, Toxine und Antitoxine. Jena (Fischer) 1904.
Pasquini, Riforma media. 1902. No. 97—98.
Pitfield, Therapeutic gazette. 1897. No. 3. p. 145.
Preobrajensky, Neurolog. Centralbl. 1902. p. 134.
Quadu, La Riforma medica. 1894. No. 241.
Ransom, Die Lymphe nach intravenöser Injektion von Tetanustoxin und Tetanus-

antitoxin. (Hoppe-Seylers Zeitschrift f. physiolog. Chemie. Bd. XXIX. 1900. Heft 4 u. 5.)
Ransom, Berliner klin. Wochenschr. 1901. No. 13 u. 14.
—, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 8.
Rehus et Terrien, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1902. No. 13. p. 444.
Reispal, La Semaine médicale. 1898. p. 195.
Roncali, Bollettino della Società dei naturalisti Napoli. Vol. XXX. No. 2.
—, La Riforma medica. 1893 p. 165.
Rouxet Vaillard, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893. No. 2. p. 64.
Salus, Ueber Tetanus. [Sammelreferat.] (Prager med. Wochenschr. 1899.)
Sanchez-Toledo et Veillen, Arch. de méd. expérim. et d'Anatomie pathologique. 1890. p. 1—11.)
Saunders and Dimack, Lancet. Vol. I. 1903. p. 654.
Schnitzler, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XIII. 1893. p. 679.
Schultz, Ueber Tetanus. [Inaug.-Diss.] Greifswald 1899.
Sjövall, E., Jahrbücher für Psychiatrie und Neurologie. 1903.
Smith, Boston med. and surg. Journal. 1898. No. 13.
Sormani, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. IX. 1891. p. 421.
—, Bullettino della R. Accademia med. di Roma. 1888—1899. p. 387.
—, Estr. dai Rendiconti del R. Istituto Lombardo. Ser. II. Vol. XXIV. 1891.
—, Riforma medica. 1889. No. 5. p. 560.
—, Verhandl. d. X. intern. med. Kongr. 1890. Berlin 1891.
Stintzing, Wesen und Behandlung des traumatischen Tetanus. (Münchener med. Wochenschr. 1898. p. 1265.)
Swiecinsky, Ref. in d. Révue neurologique. 1902. p. 27.
Tauber, Wien. klin. Wochenschr. 1898. No. 31.
Teissier, Semaine méd. 1893. No. 18. p. 133.
Thalmann, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900. Heft 3.
Tizzoni e Collina, Gazetta degli Ospedali. 1901. 17. Novbr.
Tizzoni e Centanni, Riforma medica. 1900. No. 76, 78.
Tizzoni und Cattani, Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 69.
— —, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXVII. 1890. Heft 6. p. 432.
— —, Riforma Medica. 1889. p. 512, 885.
Uschinsky, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV. 1893. p. 316.
Vaillard et Vincent, Sur le poison tétanique. (La semaine méd. 1890. No. 51. p. 425.)
— —, Ibidem. 1891. No. 5.
— —, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892. No. 6. p. 385.
— —, Ibidem. 1891. No. 1. p. 1.
Vincenzi, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 25. p. 403.
—, Archivio per le Scienze mediche. 1897. No. 1.
—, Ibidem. Vol. XVI. 1892. No. 3. p. 341.
Wassermann und Takaki, Berliner klin. Wochenschr. No. 1. p. 5.
Zaggl, Ueber Tetanus. (Münch. med. Wochenschr. 1895. No. 8. p. 160.)
Zinno, Centralbl. f. Bakteriol. Originale. Bd. XXXI. 1902. No. 2. p. 42.

Tafelerklärung.

(Koristka, Immers. homog. $^1/_{12}$ Oc. III.)

Fig. 1. Nervenzelle des Vorderhorns des Rückenmarkes (Lendenabschnitt) von einem normalen Kaninchen.

Fig. 2. Zelle des Vorderhorns des Rückenmarkes von einem mit Tetanustoxin geimpften Kaninchen. Zerbröckelung und Diffusion der chromatischen Klumpen.

Fig. 3. Zelle des Vorderhorns des Rückenmarkes von einem tetanischen Meerschweinchen. Granulare Zerstörung der chromatischen Klumpen.

Fig. 4. Zelle des Vorderhorns des Lendenmarkes von einem tetanischen Kaninchen. Starke Vakuolisation des Cytoplasmas.

Fig. 5. Eine motorische Zelle des Lendenmarkes von einem tetanischen Meerschweinchen, die in ihrem Innern einen Neurogliakern enthält. Ein anderer Kern lehnt sich einfach an sie an.

Fig. 6. N. ischiadicus eines tetanischen Kaninchens, gefärbt nach der Betheschen Methode, um die primäre Färbbarkeit der Neurofibrillen zu zeigen. Der Achsencylinder hat sich gut mit Toluidinblau gefärbt wie die Achsencylinder der normalen Nervenfasern.

Fig. 7. N. ischiadicus von einem tetanischen Kaninchen, gefärbt wie der vorige. Der Achsencylinder hat die Farbe nur sehr schwach angenommen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Bd. XXXVIII. *Tiberti*, Transport des Tetanusgiftes.

Fig. 1.

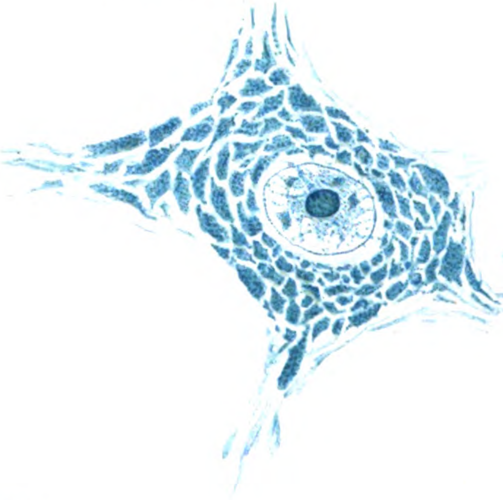


Fig. 2.

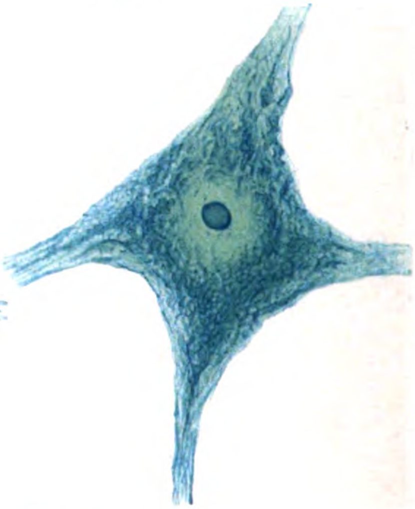


Fig. 3.

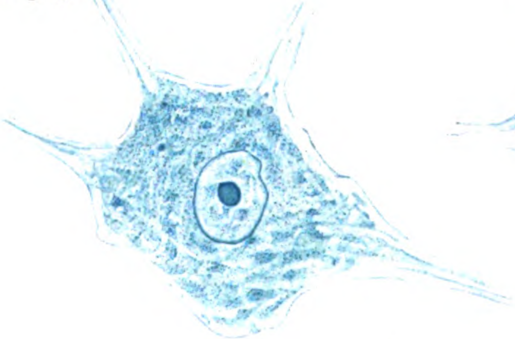


Fig. 4.

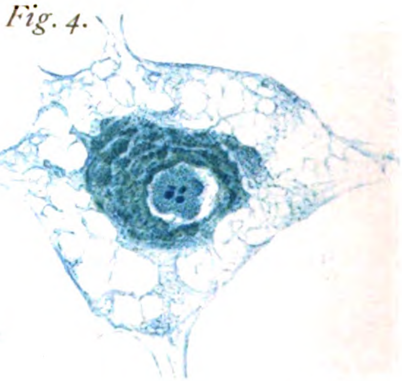


Fig. 5.

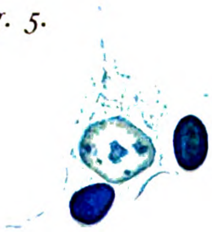


Fig. 6.

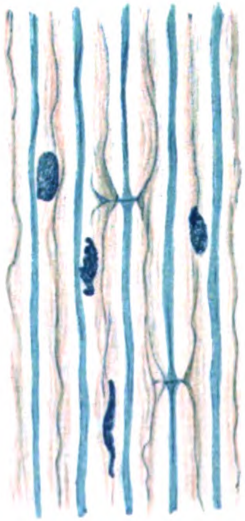
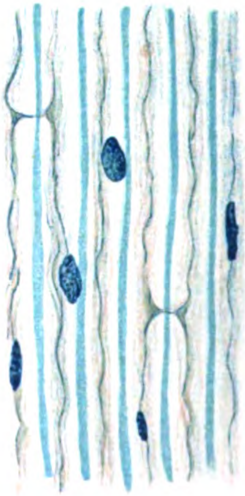


Fig. 7.



Zardo del. Verlag von **Gustav Fischer**, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Nachdruck verboten.

Ueber einen eigenartigen Mikroorganismus im Präputialsekret (Bacillus involutus).

[Aus der k. k. dermatologischen Klinik an der Deutschen Universität in Prag.]

Von Dr. **Ludwig Waelsch,** Privatdozent für Dermatologie.

Mit einer Tafel.

Gelegentlich bakteriologischer Untersuchungen des Vorhautsekretes nicht venerisch kranker Individuen bin ich einem Mikroorganismus begegnet, dessen eigenartige Charaktere in folgendem geschildert sein mögen.

Mit dem Smegma praeputiale wurden Glycerinagar- und Gelatineagar-Platten gegossen. Schon nach 24 Stunden fand ich in allen Platten stark glänzende, hirsekorngroße, tautropfenartige Kolonieen, welche sich leicht halbkugelförmig über das Niveau erhoben, eigentümlich fadenziehende Konsistenz aufwiesen. Im weiteren Wachstum werden sie deutlich flacher, erhalten ausgefranste Ränder und sind nach 8 bis 10 Tagen feinst radiär gestreift; das Zentrum zeigt manchmal eine Andeutung konzentrischer Schichtung, zumeist ist es glänzend, mit kleinsten Erhebungen in der Mitte.

Die mikroskopische Untersuchung der Platten ergab folgendes Resultat: Die Kolonieen sind rund, scharf begrenzt, am Rande feinst gezackt, erfüllt mit stark lichtbrechenden Körnchen. Bei Verwendung starker Systeme löst sich die Kolonie auf in massenhafte kurze Stäbchen, welche, in verschiedenen Richtungen nebeneinander gelagert, der Oberfläche ein wie durch kurze Striche schraffiertes Aussehen verleihen, wobei die Schraffierung nach den verschiedensten Richtungen wechselt. Die tiefen Kolonieen haben einen bräunlichen Farbenton, sind wetzsteinförmig, manchmal auch herzförmig. Die Untersuchung der Klatschpräparate ganz junger Kulturen zeigte einen Gram-beständigen Mikroorganismus, der ungemein verschiedene Formen darbietet. Neben kurzen und dicken Stäbchen mit abgerundeten Enden oder solchen von gleichmäßig längs-ovaler Gestalt findet man (Gramfärbung) auch Stäbchen, welche an den Seiten in der Mitte ganz leicht biskuitförmig eingedrückt sind, ferner auch Stäbchen, welche oft zu zwei und mehreren hintereinander gelagert sind, wobei an dem einen Ende kolbenförmige Verdickungen sich konstatieren lassen. Ferner sieht man Achterformen, Sanduhrformen, geldbörsenförmige Gebilde mit schmaler Brücke, welche zwei kolbenförmig verdickte Bacillen zusammenhält; die Kolben sind dann immer intensiv violett dunkel gefärbt; ferner finden sich aus mehreren rundlichen, kokkenartigen, perlenschnurartig aneinandergereihten Gebilden bestehende Fäden. Ihre Glieder sind entweder rund oder länger, so daß der Vergleich mit gehackten Perlen gerechtfertigt erscheint. Daneben finden sich lange, dicke Stäbchen, ferner dünne, auf kürzere oder längere Strecken gegliederte Fäden, welche förmlich an Konidienketten erinnern, weiter gleichmäßig gefärbte längere Fäden, welche an manchen Stellen aufgequollen erscheinen und dadurch einen ganz unregelmäßig gewellten Randkontur erhalten, dann wieder andere längere wurst- oder spindelförmige Gebilde, in der Mitte stark aufgequollen und verdickt; ihre Enden laufen in dünne Fäden aus. Die Verdickung ist dann bei Gram-Färbung tief dunkelviolett, die dünnen Fäden haben die Safraninnachfärbung angenommen. Diese eigenartigen Gebilde können eine bedeutende Länge erreichen und ziehen manchmal fast über das ganze Gesichtsfeld.

Während das Gram-Präparat den Glauben erweckte, daß wir es hier mit einem in seinen Wachstumsformen sehr polymorphen einfachen Bacillus zu tun hätten, ergab das mit Loefflers Methylenblau gefärbte Präparat wiederum ein ganz anderes Bild. Es fanden sich nämlich innerhalb eines blautingierten Leibes zahlreiche, tief dunkelblau gefärbte Körnchen. Durch Entfärbung des blau gefärbten Leibes mit Lugol-Lösung (bis 1 Minute), welche die Färbung der Körnchen nicht tangiert, gelang es, diese beiden Bestandteile des Mikroorganismus voneinander zu differenzieren. Besonders schöne Bilder ergaben Klatschpräparate bei Verwendung der Methylenblau-Lugol-Färbung. Das Zentrum des Präparates ist eingenommen von einer förmlichen Zoogloea, einer homogenen, schwach graublau gefärbten Masse, in welche zahlreiche dunkelblaue Körnchen eingelagert sind. Daran schließen sich dicht aneinandergelagerte, plumpe, kurze Stäbchen mit blaßgrauer Hülle, die vorerwähnten Körnchen enthaltend; ferner sieht man kreisrunde, ovale und längsovale Formen. Die annähernd kreisrunden und längsovalen enthalten 4—6—10 Körnchen, entsprechend ihrer verschiedenen Größe in unregelmäßiger Lagerung. Die abgestumpften plumpen Formen enthalten sie in einer Reihe hintereinander, immer zu zweit gelagert, besonders die etwas längeren und schmäleren Formen. Die spindelförmigen und wurstförmigen Gebilde des Gram-Präparates lassen sich nun auch auflösen in blaßgrau gefärbte Leiber, welche massenhaft kleine Körnchen enthalten und auch manchmal kurze Verästelungen zeigen, in welche die vorerwähnten Körnchen allenthalben eintreten. Die Körnchen sind kurzdauernder Alkoholeinwirkung gegenüber resistent.

Dieser eigenartige Mikroorganismus wurde auch noch auf den gebräuchlichen Nährböden weitergezüchtet.

In Gelatineplatten fanden sich nach 2 Tagen mikroskopisch sichtbare Kolonieen, grob granuliert; der Rand der Kolonieen scharf, aber nicht glatt, unregelmäßig feinst gezackt, was dadurch zustandekommt, daß die vorerwähnten Körnchen verschieden weit in den Nährboden hineinragen. Nach 5 Tagen hat die Mitte der Kolonie einen gelbbraunen Ton angenommen, nach 1 Woche sind die oberflächlichen Kolonieen hirsekorngroß, tropfenförmig, im Zentrum mit einer kleinen Delle versehen. Mikroskopisch stellen sich diese Kolonieen dar als scharf begrenzte runde Scheiben mit manchmal leicht gewelltem Kontur, von blaßgelber Farbe, fein granuliert, in größeren Abständen von radiären Streifen durchzogen, so daß die ganze Kolonie in mehrere Sektoren geteilt wird. Im Zentrum zeigt sich dann eine schön ausgebildete blütenförmige Rosette, deren Mitte schwarzbraun gefärbt ist. Andere Kolonieen zeigen nur das Bild einer Rosette, deren einzelne Blätter auch übereinander gelagert sind, einer Kompositenblüte vergleichbar. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Im Gelatinestich erfolgt langsames Wachstum um die Einstichöffnung herum und längs des Stichkanals. Nach 14 Tagen hat sich um den Einstich herum ein runder, sternchenförmiger oder grobzackiger Rasen von weißer Farbe gebildet; von demselben aus Tiefenwachstum in Form eines schmalen in eine Spitze auslaufenden Streifens, der sich aus kleinsten Körnchen zusammensetzt.

Glycerinagarstrich: Bei 37° schon nach 24 Stunden deutliches Wachstum längs des Striches in Form eines schmalen, schmutziggelbweißen Bandes mit starkem Glanz. Der Rand ist auch schon makroskopisch stellenweise fein gezackt durch einspringende Kerben, welche im Verlauf des weiteren Wachstums immer tiefer werden. Gegen das Kondenswasser zu ist bei Kulturen von 5—6 Tagen der Rand grob gelappt oder fingerförmig ausgezogen. Im Kondenswasser selbst gelblich-weiße, weiche, fadenziehende Massen. Auf Peptonagar und Traubenzuckeragar erfolgt das Wachstum in ganz ähnlicher Weise. Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen von diesen verschiedenen Agarnährböden ergibt aber insofern Verschiedenheiten, als die geschilderten wurstförmigen und spindelförmigen Gebilde in Glycerinagarkulturen am deutlichsten und schönsten entwickelt sind.

Agarstichkultur: Deutliches Wachstum um die Einstichöffnung in Form eines flachen Nagelkopfes, längs des Stiches Wachstum in Form eines dünnen Fadens. Nach 3 Wochen ist die ganze Oberfläche des Nährbodens überzogen von einem flachen, weißen, wachsglänzenden, im Niveau gelegenen Rasen; das Zentrum glatt, daran anschließend ein feinst radiär gestreifter Bezirk mit mehreren konzentrischen Kreislinien, denselben abgrenzend gegen die Randteile, welche sich auflösen in Thujaästchen ähnliche Zweige. Im Stich hat dann auch das Wachstum zugenommen. Der ursprünglich vorhanden gewesene dünne Faden hat sich dann vergrößert zu einem ährenartigen Gebilde, welches kleinste Ausläufer zeigt.

Im Traubenzuckeragarstich keine Gasbildung.

Auf Menschenblutserumagar sehr rasches Wachstum. Nach 48 Stunden ist die ganze Nährbodenoberfläche von einem grauweißen, glänzenden Belag überzogen. Die mikroskopische Untersuchung dieses Belages einer 48-stündigen Kultur ergab folgendes Bild (Färbung nach Gram): Vorwiegend mohnkornartige Gebilde (monokokkenartig), auch zu zwei und mehreren hintereinander gereiht, daneben auch kurze Fäden durch Aneinanderreihung plumper Bacillen entstanden; weiter zahlreiche längere Stäbchen und spindelförmige, beiderseits in eine Spitze ausgezogene Gebilde (ähnlich wie von Glycerinagar).

(Färbung mit Loefflers Methylenblau, Entfärbung mit Lugol). In der graublau gefärbten Hülle der kokkenartigen Gebilde fand sich zumeist nur ein einziger kleiner, dunkelblauer Kern, zumeist exzentrisch oder ganz am Rande der Hülle gelegen, daneben leere, graublau gefärbte Schleimhüllen. Auch die kurzen Fäden zeigen in ihren Elementen ähnlichen Bau. Im Kondenswasser fanden sich neben den vorerwähnten Kokken- und Bacillenformen Gebilde, welche direkt wie Streptokokken aussahen, weiter kleine Häufchen größerer und kleinerer Diplokokken, ferner isolierte förmliche Riesenkokken, auf einer Seite oft in eine stumpfe Spitze ausgezogen, kleinere Monokokken wie vom Blutserum, plumpe Bacillen, oft kolbig verdickt.

Bouillon. Nach 5 Tagen ist die Bouillon deutlich getrübt und läßt beim Schütteln einen fadigen Bodensatz aufsteigen, der sich unter stärkerer Trübung der Bouillon vollkommen verteilen läßt. Daneben finden sich auch in der Flüssigkeit kleine Plättchen, welche sich nicht durch Schütteln auflösen lassen und aus fest miteinander verklebten Bacillen bestehen; deutlicher Niveaurand, kein Oberflächenhäutchen.

Mikroskopische Untersuchung (Gram-Färbung). Lange gegliederte Fäden, die manchmal in einen längeren kompakten Faden enden. Am anderen Ende sind dann die einzelnen Glieder kürzer. Dadurch kommt es zu stande, daß zunächst dem kompakten Faden die Glieder Bacillenform haben mit Andeutung einer Trennungslinie in der Mitte, am anderen Ende des Fadens wie Diplokokken aussehen. Dann finden sich vollkommene Bacillenfäden und Streptokokken, weiter lange ungegliederte und in größeren Abständen gegliederte Fäden, welche nicht sehr Gram-beständig sind, starke Safraninfärbung zeigen. An manchen derselben sieht man den Beginn einer Teilung; kleine, eng aneinanderliegende Anschwellungen des Fadens mit sichtbar werdenden Kerben mit einer kolbigen Anschwellung an einem oder beiden Enden, ferner plumpe, bacillenförmige Gebilde isoliert oder zu zweit oder in längeren Fäden hintereinander gelagert, kleinere und größere Diplokokken, lange, peitschenschnurartige Gebilde, an beiden Enden zugespitzt, in der Mitte etwas angeschwollen.

In älteren Kulturen hat sich der Bodensatz zu klumpigen Brocken verdichtet. Die mikroskopische Untersuchung zeigte nach 17 Tagen geringere Gram-Beständigkeit, die Streptokokkenformen und Bacillenfäden sind spärlicher geworden. Es überwiegen die ungegliederten dicken und dünnen Fäden, mit kleinen, perlschnurartig aneinandergereihten Anschwellungen und spindeligen Verdickungen in der Mitte. Dagegen finden sich sehr zahlreiche kolbige Gebilde von roter Farbe mit dunkelviolettem Inhalt. Auch in den spindeligen Anschwellungen der Fadengebilde sieht man 1—2 derartige, dunkelviolett gefärbte, längsovale Körperchen, welche aber, wie die Loeffler-Lugolsche Färbung zeigt, auch aus den vorbeschriebenen kleinsten Körnchen bestehen. Weiter sieht man ungemein zarte und schwach rosarot gefärbte Fäden, welche noch eine Andeutung von Gliederung erkennen lassen und den Eindruck erwecken, als hätten sie ihren Inhalt ausgestoßen.

In Lackmusmilch deutliches Wachstum ohne Gerinnung der Milch, die neutrale Lackmustinktur wird entfärbt. Nach Schütteln der Milch bekommt dieselbe einen ganz schwachen rosaroten Stich. Im mikroskopischen Präparate aus dieser Kultur überwiegen Mono- und Diplokokkenformen nebst kurzen streptokokkenförmigen Gebilden.

Auch mit Methylenblau gefärbte Milch wird nach 1 Woche total entfärbt.

Auf Kartoffel erfolgt sehr langsames und spärliches Wachstum in Form eines dünnen, von dem Nährboden nur schwer unterscheidbaren Ueberzuges.

Der gefundene Mikroorganismus erwies sich für Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, weiße Mäuse nicht pathogen.

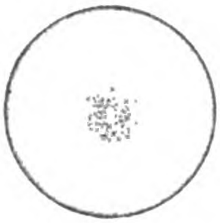
Bei der Bestimmung des gefundenen Mikroorganismus zum Zwecke seiner Einreihung in eine der bekannten Gruppen und Arten mußte zuerst die Frage beantwortet werden, ob die bei Methylenblau-Lugol-Färbung darstellbare Hülle tatsächlich eine Kapsel war oder nicht. Die verschiedenen vorgenommenen Färbungen ergaben nun, daß es sich um eine Pseudokapsel handele, entstanden durch Quellung des Bakterienleibes; sie ließ sich mit Anilinfarben tingieren, dagegen nicht mit den gebräuchlichen Kapselfärbungen darstellen. Die in dieser Pseudokapsel enthaltenen Körnchen sind wohl nicht anders als das Ergebnis einer sehr hochgradigen Plasmolyse aufzufassen; sie geben die Neissersche Färbung und wären daher in Analogie zu setzen mit den Babes-Ernstschen Körperchen.

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. I Bd. XXXVIII

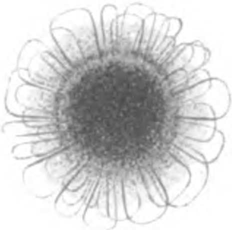
Waelsch, *Ueber einen eigenartigen Mikroorganismus im Praeputialsecret (Bacillus involutus)*

1.

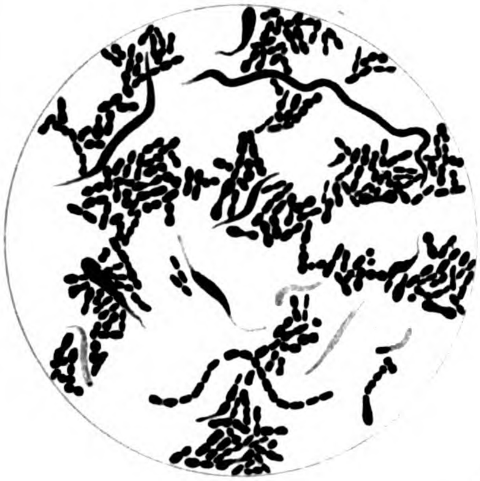
2.



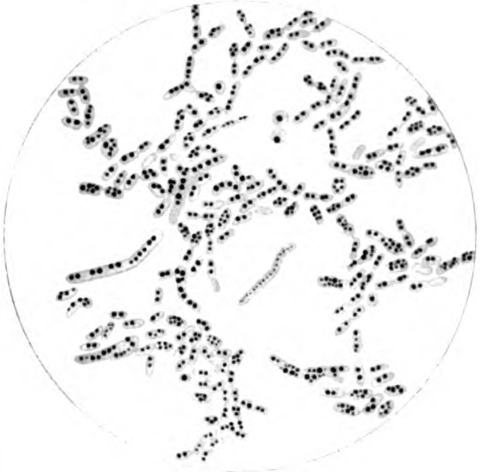
3.



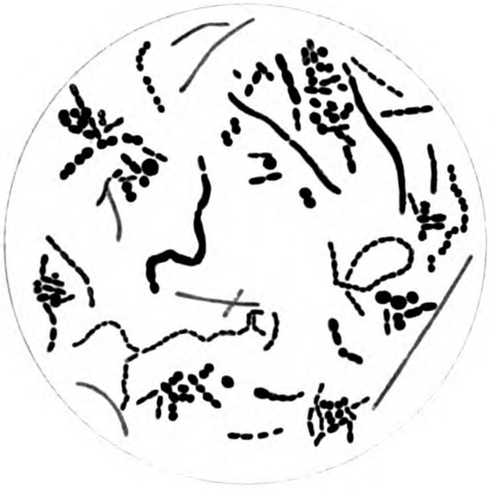
4.



5.



6.



Bohac gez.

Verl v **Gustav Fischer**, Jena

Lith. Anst v J. Arndt, Jena

Die Quellung des Bakterienleibes, mit welcher die hochgradige Plasmolyse Hand in Hand geht, ist ein Involutionsvorgang, auf den auch die eigentümlichen langen spindel- und wurstförmigen Gebilde zurückzuführen sind.

Den letzteren ähnliche Gebilde sind schon bei verschiedenen Mikroorganismen beschrieben worden. So bildet z. B. Jürgensen[1]) bei Schilderung der Essigsäurebakterien ähnliche Formen ab. Kurth[2]) sah bei seinem Streptococcus involutus, den er aus Blasen bei Maul- und Klauenseuche züchtete, in Bouillon, neben regelmäßigen Ketten Zellen, welche „auffällig langgestreckt bis blasig spindelförmig sind“.

Unser Bacillus zeigte ferner in seiner Gestalt, speziell auch in seinen Involutionsformen gewisse Aehnlichkeit mit dem Erreger der Diplobacillenconjunctivitis von Morax-Axenfeld, wie die in der Publikation Axenfelds[3]) über diesen Mikroorganismus enthaltenen Abbildungen beweisen. Außer der Uebereinstimmung in der Gestalt beider Mikroorganismen wäre noch zu erwähnen, daß Axenfeld im Gegensatz zu anderen Autoren seinem Mikroorganismus eine deutliche Kapsel abspricht und daß dieser Diplobacillus weder bei subkutaner noch bei intraperitonealer Impfung pathogen ist. Dagegen unterscheidet er sich von dem aus dem Vorhautsekret stammenden durch seinen Fundort, ferner dadurch, daß er nicht Gram-beständig ist, mit Sicherheit nur auf Blutserum oder serumhaltigen Nährböden wächst oder auf solchen, welche Körperflüssigkeiten enthalten, endlich Gelatine verflüssigt.

Es zeigt also der gefundene Bacillus mit keinem der bekannten Mikroorganismen vollkommene Uebereinstimmung, wenigstens soweit ich die mir zugängliche Literatur überblicke. Wegen seiner Neigung, eigenartige Involutionsformen zu bilden, möchte ich ihn Bacillus involutus nennen.

Herrn Professor F. J. Pick, Vorstand der dermatologischen Klinik in Prag, bin ich für Ueberlassung des Materiales zu diesen Untersuchungen zu großem Dank verpflichtet.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Kolonie aus Gelatineplatte nach 5 Tagen.
Fig. 2 u. 3. Kolonieen aus Gelatineplatte nach 8 Tagen.
Fig. 4. Von 3-tägiger Glycerinagarstrichkultur (Färbung nach Gram).
Fig. 5. Dasselbe wie Fig. 4 (Färbung mit Loefflers Methylenblau mit nachfolgender Jodierung durch Lugolsche Lösung).
Fig. 6. Aus 5-tägiger Bouillonkultur (Färbung nach Gram).
(Fig. 4, 5, 6 sind der Einfachheit wegen aus mehreren Gesichtsfeldern zusammengestellt und mit Reicherts Okular 6, Immersion $^1/_{18}$ aufgenommen.)

---

[1]) Jürgensen, Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin 1898. p. 70.

[2]) Kurth, H., Bakteriologische Untersuchungen bei Maul- und Klauenseuche. (Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. VIII. 1893. p. 439.)

[3]) Axenfeld, Spezielle Bakteriologie des Auges. (Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. 1902.)

Nachdruck verboten.

Der Einfluss der Temperatur auf die geschlechtliche Generationsentwickelung der Malariaparasiten und auf die experimentelle Malariaerkrankung.

[Mitteilung aus der mediz. Klinik des Herrn Hofrat Prof. Dr. S. Purjesz in Kolozsvár.]

Von Dr. **Nikolaus Jancsó,** Dozent.

Mit 4 Kurven.

Grassi stellte zuerst Untersuchungen darüber an, welcher Art der Einfluß der Außentemperatur auf die in den *Anopheles* sich entwickelnde geschlechtliche Generation der Malariaparasiten sei.

Obwohl schon Grassi zu interessanten Resultaten gelangte und auf die große epidemiologische Bedeutung dieser Untersuchungen hinweist, haben sich doch nur wenige mit der allseitigen Beleuchtung dieser Frage befaßt.

Deshalb erlauben wir uns, die Versuche, welche wir zur Klärung dieser Frage durchgeführt haben, kurz zusammengefaßt mitzuteilen.

Bei einer Gruppe unserer Untersuchungen ließen wir die in einer Eprouvette sich befindenden *Anopheles* von einem Kranken Blut saugen, worauf dieselben in einem, an verschiedenen Plätzen mit konstanter Temperatur, z. B. Thermostat, Keller, Eisschrank schon vorher untergebrachten Tüllkäfig hineingelassen und gehalten wurden.

In einer anderen Gruppe unserer Versuche wurden die *Anopheles* erst infiziert, bei aus unseren Untersuchungen bereits bekannten, dazu geeigneten Wärmegraden gehalten und erst dann in verschiedene andere, gewöhnlich niedrigere Temperaturen gebracht, wobei darauf geachtet wurde, wie die Entwickelung der Cysten bei den verschiedenen Temperaturen vor sich geht.

Die Temperatur wurde mit einem am Käfig angebrachten Thermometer täglich mehrmals kontrolliert.

Die Versuche wurden mit in Scheunen eingefangenen *Anopheles* durchgeführt; in solchen fanden wir niemals Malariainfektion, doch wurden in jeder Versuchsserie Kontrolluntersuchungen gemacht mit solchen *Anopheles*, die von dem Blute des betreffenden Kranken nicht gesogen hatten.

In diesen fanden wir niemals Cysten.

Die *Anopheles* wurden zu Versuchszwecken mit Menschenblut genährt.

Unsere Experimente sind die folgenden:

Mit *Haemamoeba vivax*-Gameten durchgeführte Experimente.

I. *Anopheles claviger* saugen Blut von Josef Blinard — mit täglichen Temperatursteigerungen von 39,9—41,3° und viel *Haemamoeba vivax*-Gameten im Blute — am 23. September 9 Uhr vorm., 1 Stunde vor dem Anfall. Das Blutsaugen geschieht bei 27° C $^1/_2$ Stunde lang. Ein Teil der *Anopheles* wird nun in eine Temperatur von 30° C, der andere in 21° C versetzt.

1. Die bei 30° C stehenden verbleiben kontinuierlich bei dieser Temperatur. Von 28 erweisen sich 4 infiziert.

Am 5. Tage sind die Cysten schon 17—22 μ groß.

Am 9. Tage beträgt die Größe 28—37 μ.

Am 12. Tage 30—37 μ große Sporoblasten und Sporocysten zu finden, in den Sporocysten sind die Sporozoiten in Strängen speichenartig angeordnet.

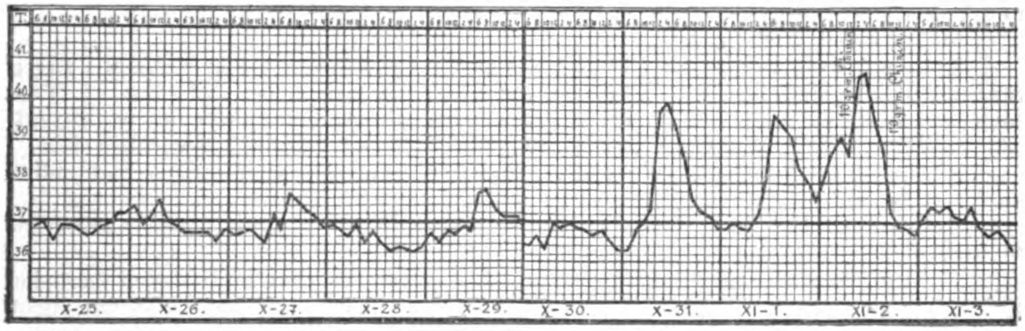
2) Die zu 21 ° C gestellten stehen fortwährend bei 18—20 ° C. Von 40 sind 26 infiziert.

Am 5. Tage 6—8 μ große Oocysten.

Am 12. Tage 19—22 μ große Sporoblasten in Bildung.

Am 19. Tage 44—46 μ große, vollkommen fertige Sporocysten, die Kapsel noch unversehrt, die Speicheldrüsen noch nicht infiziert.

Am 16. Oktober 6 Uhr abends ließen wir I. M. J. von 6 Stück der seit 23 Tagen bei 21 ° C gehaltenen *Anopheles* stechen.



I. M J.

Vom 26. Oktober an treten nachmittags Temperaturerhöhungen auf, und am 15. Tage nach dem Stiche tritt um 1 Uhr mittags Schüttelfrost mit einer Temperatur bis 40 ° C auf, der sich am 16. Tage mit 40,7 C wiederholt. Im Blute viele *H. vivax*-Schizonten, und schon im ersten Anfalle viele *H. vivax*-Gameten.

Im Beginn des zweiten Anfalles, am 1. November 6 Uhr nachm., saugen *Anopheles clav.* während einer halben Stunde bei 37 ° C Blut von diesem M. J., dann werden dieselben verteilt und in je einen Käfig in konstant temperierte Räumlichkeiten zu 35 °, 30 °, 24 °, 20 °, 17 °, 16 ° und 13 ° untergebracht.

Von 4 bei 35 °, bald bei 37 ° C gehaltenen *Anopheles* ist am 4. Tage einer mit 7 μ großen Oocysten infiziert, von welchen viele ganz normales Aussehen, viele stark lichtbrechende Granulierung zeigen.

3. Von 6 bei 30 ° C stehenden *Anopheles* waren 4 infiziert. Am 8. Tage bereits 26—30 μ große Sporoblasten mit Sporozoiten im Bildungsstadium und Sporocysten.

Am 10. Tage fanden wir viel geplatzte und unversehrte Sporocysten, die Speicheldrüsen waren bereits infiziert.

4. Von 6 bei 24 ° C stehenden infizierten sich 4. Am 10. Tage waren in diesen 30—37 μ große, vollkommen gereifte Sporocysten, geplatzte, leere Kapseln zu finden.

5. Zu 20 ° C stellten wir 15 *Anopheles.* Diese stehen fortwährend bei einer von 19—22 ° schwankenden Temperatur. Von diesen infizierten sich 11, und zwar am 7. Tage nach dem Stiche mit 7—11 μ großen Oocysten; am 13. Tage mit 29—30 μ großen Sporoblastoiden; am 16. Tage mit 33—37 μ großen Sporozoitoblasten, die meist forgeschritten, ja sogar schon zu Sporocysten entwickelt waren. In den am 19. Tage Getöteten fanden sich 29—33 μ große Sporocysten und geplatzte leere Kapseln. Die Speicheldrüsen sind bereits infiziert.

6. Von den bei 17—15 ° stehenden 11 *Anopheles* wurden 10 infiziert; die Infektion ist an den Magen genau so ausgeprägt wie an den bei 24 ° Gehaltenen; in den ersten Tagen fällt die Temperatur auf 17 °, in den späteren Tagen bald auch auf 16—15 °. In den am 9. Tage nach dem Blutsaugen Getöteten finden wir 6 μ große Oocysten. Am 29. Tage sind neben 18 μ großen Sporoblastoiden von ganz normalem Aussehen, auch degenerierte Cysten vorhanden. Am 41. Tage finden wir am herausgezogenen Magen des einen Sporoblastoiden und unter diesen auch 8 μ große degenerierte Oocysten. In dem am 53. Tage Getöteten zahlreiche 22—26 μ große Sporocysten, die fast normal aussehen, außerdem sehen wir viel 8—11 μ große degenerierte Cysten. Die Speicheldrüsen sind noch nicht infiziert.

Die an diesem Tage noch lebenden werden zu 20—22 ° gestellt und am 27. Dezember lassen wir II. P. T. durch 3 derselben stechen; am 2. Januar ließen wir durch 2 von denen, die bereits am 27. Dezember P. T. gestochen haben, III. M. G. stechen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Am 8. Januar werden alle 3 getötet. Im Magen des einen ist vollkommen verdautes Blut, Infektion weder am Magen noch in den Speicheldrüsen; am Magen der zwei anderen sind 3 Stück von braunen Sporen erfüllte, 22—30 μ große Cysten, ebensolche braune Sporen enthaltende geplatzte Kapseln und viel 8—11 μ große degenerierte Oocysten sichtbar.

Keines der Versuchsindividuen erkrankte.

7. Die zu 16° Gestellten stehen späterhin bei 15—14°.

Von 2 am 36. Tage nach dem Blutsaugen Getöteten sind an einem viele 18 μ große, ziemlich normale Oocysten. Am 40. Tage leben nunmehr 2. Diese werden zu 24° hinübergestellt. Am 42. Tage geht einer zu Grunde, dieser ist mit 22—30 μ großen, ganz normalen Sporozoitoblasten infiziert. Auch sind viel 15—13 μ, ja 6 μ große degenerierte Oocysten vorhanden. Am 43. Tage ließen wir durch den einen noch lebenden *Anopheles* IV. W. T. stechen. In dem Magen des nach 6 Tagen getöteten *Anopheles* findet sich eine einzige degenerierte Cyste, Speicheldrüsen sind nicht infiziert.

W. T. bleibt gesund.

8. 16 *Anopheles* werden zu 13° gestellt; stehen fortwährend bei 13°. Nach 4 Tagen wird die Hälfte derselben zu 22° gestellt, die anderen bleiben bei 13°. Am 11. Tage nach dem Blutsaugen werden die bei 22° Stehenden getötet, keiner derselben ist infiziert. Am 14. Tage werden die bei 13° Stehenden getötet, keiner derselben war infiziert.

9. Am 12. August lassen wir von A. Bozsan *A. claviger* Blut saugen und stellen sie sofort zu 35°.

Am 3. Tage lebt nur einer. In diesem waren 13—15 μ große normale Oocysten zu finden.

10. Am 30. Juni saugen *Anopheles* von J. Brezovits Blut und werden dann bei 30° gehalten. Am 6. Tage sind sie mit 33—37 μ großen Sporozoitoblasten dicht infiziert.

11. Am 1. Juli lassen wir von Brezovits Blut saugen und werden die *Anopheles* sofort zu 17° gestellt; die Temperatur schwankt dann kontinuierlich zwischen 16—17°. Am 12. Tage lebt nur ein Exemplar. In diesem sind 13—15 μ große normale Oocysten zu finden.

12. Am 9. September lassen wir von Frau Jzzo ein *Anopheles* mittels einer Eprouvette Blut saugen, stellen diesen sofort in den Eisschrank zu 11°, wo derselbe 22 Stunden verbleibt, dann wird er bei 21° gehalten. Am 6. Tage nach Abtötung desselben sind am Magen 6 Stück 6—7 μ große normale Tertia-Oocysten zu finden.

II. Bei einer 2. Gruppe unserer Experimente verfuhren wir derart, daß wir die *Anopheles*, nachdem dieselben bei der erforderlichen Temperatur sicher infiziert waren, in verschiedene Temperaturen unterbrachten, um so die weitere Entwickelung der Cysten zu prüfen.

Von M. J. lassen wir am 1. November 6 Uhr abends zu Beginn des Temperaturanstieges durch *Anopheles* Blut saugen und stellen die *Anopheles* nachher zu 20° C.

Am 7. Tage werden 4 getötet, an deren Magen 8—11 μ große Oocysten dicht gruppiert zu sehen sind.

Sodann ließen wir die übrigen von einem nicht infizierten Individuum abermals Blut saugen und verteilten sie in folgende 4 Gruppen:

13. Eine Gruppe stellten wir zu 30°. Von diesen töten wir am 10. Tage 2, am Magen der beiden waren sehr viele 30—33 μ große Sporozoitoblasten zu finden; am 12. Tage nach dem Blutsaugen fanden wir 30—37 μ große ganz fertige Sporocysten, von welchen ein großer Teil bei der Verfertigung des Präparates platzte.

14. Eine 2. Gruppe bleibt weiter bei einer zwischen 20—22° schwankenden Temperatur. Am 19. Tage nach dem Blutsaugen finden wir in diesen 29—33 μ große, im Platzen begriffene Sporocysten und leere Kapseln.

15. Die folgende Gruppe stellen wir zu 16°, dieselben stehen anfangs bei einer zwischen 16—13°, später 13—11° schwankenden Temperatur, zu Ende des Experiments hingegen bloß bei 11—9°.

Am 12. Tage nach dem Blutsaugen töten wir 2, in einem finden wir 15 μ große Oocysten, mit noch in Reihen angeordneten Pigmenten.

Am 29. Tage wird einer getötet, dieser erweist sich mit 20—26 μ großen, in Ausbildung befindlichen Sporoblastoiden stark infiziert.

Am 36. Tage wird eins getötet, am Magen desselben sehr viele 24—29 μ große Sporozoitoblasten, keine Degenerationszeichen.

Am 21. Dezember stellen wir die noch übrigen zu 22 °.

Am 26. Dezember vorm. lassen wir V. V. T. durch einen *Anopheles* stechen.

Am 3. Januar 1903 lassen wir durch denselben V. T. abermals stechen.

Am 9. Januar töten wir den, welcher gestochen hatte; am Magen sind viele 33—44 μ große, aber auch 28—33 μ große Blasen zu finden, in keinem derselben waren Sporozoiten enthalten, sondern sie zeigen teils homogene feine Granulierung, teils sind sie mit großen groben lichtbrechenden Schollen gefüllt. Auch viel geplatzte Cystenhüllen sind zu sehen; in einer derselben braune Sporen. Außerdem sind ziemlich viel 8—11 μ große geschrumpfte, degenerierte Cysten sichtbar. Die Speicheldrüsen sind nicht infiziert.

V. T. bleibt bis 3. Februar 1903 gesund.

16. Eine Gruppe halten wir bei 15 °.

Am 19. Tage nach dem Blutsaugen töten wir 2; am Magen der beiden sind 20—22 ° große ausgebildete Sporoblastoiden in großer Zahl zu sehen.

Am 43. Tage stellen wir sie zu 24 °.

Am 14. Dezember lassen wir VI. P. T. durch 2 stechen.

Am 19. Dezember leben nur 2; durch diese lassen wir P. T. abermals stechen.

Am 22. Dezember werden beide getötet, in einem ist bloß eine 24 μ große degenerierte Cyste auffindbar, geplatzte Kapseln am Magen bei keinem zu sehen, Speicheldrüsen sind nicht infiziert.

Bis 1. Februar 1903 blieb T. P. gesund.

Mit *Haemamoeba praecox*-Gameten durchgeführte Experimente.

17. Am 18. September saugen *Anopheles* von W. **Rusz** Blut und werden gleich in 30 ° untergebracht. Nach 30 Stunden fand sich im Darme wenig verdautes Blut und zwischen die Epithelzellen sich hineinbohrende Ookineten.

Am 9. Tage 30—44 μ große Sporoblasten, am 11. Tage Sporocysten.

18. Am 15. November lassen wir von demselben Kranken Blut saugen und bringen die *Anopheles* 30 ° unter.

Am 9. Tage befinden sich an dem herausgezogenen Magen viele ganz fertige Sporocysten und einige leere Kapseln.

Am 10. Tage sind alle Kapseln leer, die Speicheldrüsen sind bereits infiziert.

19. 26. Oktober. Von Frau **Kurinecz** mit vielen Halbmonden im Blute und täglichen intermittierenden Temperatursteigerungen bis 40,0—40,3 ° C, saugen *Anopheles* bei 30 ° C Blut und werden sofort im Thermostaten zu 30 ° C untergebracht.

Am 4. Tage finden wir an dem herausgezogenen Magen viele kleine Oocysten.

Am 7. Tage war der Bildungsprozeß der Sporoblasten beendigt.

Am 8. Tage Sporocysten gebildet, die Speicheldrüsen noch nicht infiziert.

Am 3. Novbr. 5 Uhr abends lassen wir VII. Z. P.*) durch 3, am 4. Novbr. 6, am 5. Novbr. 30, am 13. Novbr. 16 *Anopheles* stechen.

Am 12. Novbr. erste Temperatursteigerung 37,5 (Inkubationszeit 9 Tage).

Milz 1 Finger breit unter dem Rippenbogen palpabel.

Am 13. Novbr. Temperaturerhebung bis 38,2 °.

Milz 2 Finger breit palpabel.

Am 14. Novbr. Temperatursteigerung bis 38,4 °, klagt über ziehende Gliederschmerzen.

Am 15. Novbr. vorm. Schüttelfrost, heftiger Kopfschmerz, Temperatursteigerung bis 40,2 °, dann Hitze, bald Schweiß.

Am 16. Novbr. morgens befindet er sich besser. Nachm. von 1—4 Uhr heftiger Frost, zweimaliges Erbrechen, Temperatursteigerung bis 40,2 ° C. Im Blute jetzt zum ersten Male *Haemamoeba praecox*.

Am 17. Novbr. noch immer 38,6 °, sehr verfallen, Sensorium nicht frei, hochgradiger Kopfschmerz, ächzt, stöhnt. Erhält Vorm. 1,5 g Chinin. Im Blute noch viel Parasiten. Nachts starker Schweiß.

Am 18. Novbr. mittags erhält er 1 g Chinin, trotzdem abends noch 38,9 ° C.

An folgenden Tagen noch subfebril, an späteren Tagen Temperatur normal.

20. 29. Oktober. Von Frau **Kovács** mit vielen Halbmonden im Blute und täglichen, in den Nachmittagsstunden mit Frost einhergehenden Temperatursteigerungen bis 39,0—39,1 °, infizieren wir *Anopheles* und halten dieselben bei 30 ° C.

---

1) Die mit *) bezeichneten Fälle wurden bereits von Prof. **Purjesz** in seiner Arbeit: Beiträge zur Malariafrage (Wiener klin. Rundschau. 1902) mitgeteilt.

Am 12. Tage sind an zwei herausgezogenen Magen ganz fertige Sporocysten und geplatzte Kapseln zu finden, die Speicheldrüsen sind infiziert.

Am 6. Novbr. lassen wir VIII. L. T.*) durch einige, am 8. Novbr. 5, am 11. Novbr. 4 und am 12. Novbr. 2 stechen.

Bis 16. Novbr. Wohlbefinden, diesmal abends 37,5 °, also nach 10-tägiger Inkubationsdauer, Milz wird tastbar. Am folgenden Tage Kopf- und Kreuzschmerzen, abends 39,6 °.

Am 18. Novbr. den ganzen Tag hohes Fieber, das sich bis 40,5 ° erhebt, im Blute jetzt zum ersten Male amöboide Formen von *H. praecox.*

Bekommt abends 1,5 ° g Chinin. Trotzdem tritt ein schwerer Anfall auf, der 2 Tage dauert, und erst auf wiederholte große Chinindosen bleiben die Temperatursteigerungen weg und verschwinden die Parasiten aus dem Blute.

Am 16. Novbr. 6 Uhr abends lassen wir IX. K. A.*) durch 6 *Anopheles* stechen. Erste Temperatursteigerung am 22. Novbr., also am 7. Tage, 37,2 °. Von da ab steigt die Temperatur täglich mit vollen Intermissionen höher und höher.

Im Blute zum ersten Male am 26. Novbr. morgens amöboide Formen von *H. praecox.* Da uns K. A. am 27. Novbr. verläßt, kennen wir den weiteren pünktlichen Temperaturverlauf nicht; nur so viel ist uns bekannt, daß die Temperatursteigerungen auf Chinin wegblieben.

Bei 22—24 ° C.

Am 23. Novbr. infiziere ich *Anopheles* von Potor bei 34 ° C mit Phönix 1)).

Die *Anopheles* saugen 1 Stunde, hierauf werden sie zu 24 ° C gestellt, die Temperatur bleibt weiter andauernd zwischen 22—24 ° C. Von 10 finden wir 5 infiziert.

Am 5. Tage finden wir 15—17 μ große Oocysten, am 8. Tage sich bildende Sporoblasten und am 15. Tage 50—55 μ große ganz fertige Sporocysten, geplatzte Kapseln an den herausgezogenen Magen, und ihre Speicheldrüsen stark infiziert.

22. Am 15. Novbr. infizieren wir *Anopheles* von Frau Kurinecz und stellen sie in den Thermostaten zu einer von 22—24 ° schwankenden Temperatur. Durch diese infizieren wir 2 Individuen.

Am 30. Novbr. vorm. 10 Uhr lassen wir X. M. A.*) durch 7 *Anopheles* stechen. Inkubationszeit 10 Tage, da die erste Temperatursteigerung erst am 10. Dezbr. mittags — 38,9 ° — erfolgt, im Blute *Praecox*-Parasiten; am darauffolgenden Morgen fällt die Temperatur auf 37,5 °, und obwohl jetzt 1,5 g Chinin verabreicht wird, tritt mittags dennoch Schüttelfrost auf, und abends erhebt sich die Temperatur auf 39,3 °. Am 12. Dezbr. morgens 37,5 °, erhält 1,5 g Chinin, Temperatursteigerungen bleiben aus, auch weiterhin Apyrexie.

Am 3. Dezbr. vorm. 11 Uhr inokulieren wir XI. L. A.*) 54 Jahre alt, durch einen einzigen *Anopheles.* Erste Temperatursteigerung am 14. Dezbr. nachm. 38,8 °, schon jetzt finden wir im Blute halbmondbildende Parasiten. Da eine pünktliche Temperaturmessung nicht durchführbar war, können wir den weiteren Temperaturverlauf nicht ganz genau angeben; wir bemerken bloß, daß am 21. Dezbr. zum ersten Male Chinin verabreicht wurde, am folgenden Tage Temperatursteigerung bis 39,1 °, dann Apyrexie und negativer Blutbefund.

Am 6. Dezbr. nachm. lassen wir XII. M. J.*), 69 Jahre alt, durch 2 *Anopheles* stechen. Bekommt am 12. und 13. Dezbr. nachm. 1—2 g Chinin.

Bis 18. Dezbr. Temperatur normal. In der Nacht vom 17. auf 18. Unwohlsein; am 18. morgens beträgt die Temperatur 37,2 °, mittags 39,8 °, kein Frost, bloß Mattigkeit, Schwindel. Im Blute viel *H. praecox.*

Sofort wird Chinin verabreicht: vorm. 10 Uhr 0,2 g subkutan, nachm. 1 g per os.

Bis 19. Dezbr. abends kein Fieber, erhält vorm. 1 g Chinin, trotzdem nachts Schüttelfrost, die Temperatur steigt bis 39,2 ° und auch noch am 20. finden wir einige *Praecox*-Parasiten. Auf neuere Chinindosen treten dann weiter keine Temperatursteigerungen auf.

Bei 20 ° C.

23. Am 23. Oktober saugen *Anopheles* Blut von Illés mit Phönix bei 31 ° C $^1/_2$ Stunde lang, und werden dann zu 20 ° C gestellt.

Die Temperatur bewegt sich weiter dauernd zwischen 20—22 ° C.

Am 7. Tage sind an 4 von 6 herausgezogenen Magen sehr viele 8—11 μ große Oocysten; am 13. Tage sind an einem von den 2 herausgezogenen Magen 22—26 μ große Sporoblasten in Bildung.

24. Am 24. Septbr. lassen wir *Anopheles* von Füzesi mit Phönix bei 30 ° C Blut saugen und stellen dieselbe nach $^1/_2$ Stunde zu 20 ° C. Die Temperatur ist ziemlich be-

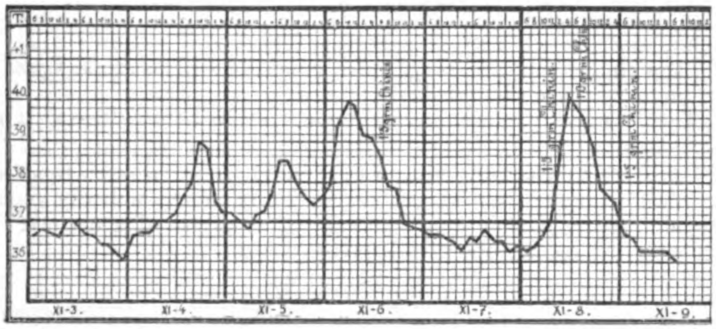
---

1) Pat. wurde ins Bett gelegt, der Wärmeapparat „Phönix“ unter die Decke gebracht, die Luft unter der Decke wurde auf 34 ° erwärmt.

ständig zwischen 20 und 21 °. Nach 18 Tagen töten wir 1 Exemplar, an diesem sind mehr als 60 26—30 μ große Sporoblasten.

Am 21. Oktober vorm. $^1/_2$12 Uhr inokuliere ich XIII. J. J. durch einen *Anopheles*; diese Mücke wird am 27. Oktober seziert, und es finden sich 2 geplatzte Kapseln, 14 μ große Sporocysten und eine 15 μ große degenerierte Cyste; die Speicheldrüsen sind stark infiziert.

Am 25. Oktober lasse ich ihn durch einen anderen *Anopheles* stechen. Dieser wird am 31. Oktober seziert, am Magen finden sich keine Cysten, nur ein Teil der Speicheldrüse konnte auspräpariert werden, dieser war nicht infiziert.



XIII. J.J.

Am 28. und 29. Oktober vorm. bekommt J. J. 1—1 g, am 30. Oktober 1,5 g Chinin in Pulverform.

Am 4. Novbr. nachm., d. i. am 14. Tage von der ersten Inokulation gerechnet, tritt zum ersten Male Temperatursteigerung auf, abends 10 Uhr 39 ° Temperaturmaximum, starker Kopfschmerz, Frostschauer.

Am folgenden Tage morgens sinkt die Temperatur auf 36,8 ° und erhebt sich bis zum Abend allmählich auf 38,5 °, um nach einer großen Remission am 6. Novbr. vorm. auf 40 ° C anzusteigen. Im Blute finden wir diesmal halbmondbildende Parasiten.

Als am 6. die Temperatur im Sinken ist, geben wir 1,5 g Chinin, danach am 7. morgens Apyrexie, dieselbe bleibt bis 8. mittags, da steigt die Temperatur wieder mit Schüttelfrost auf 40,2 ° an, wo doch an diesem Tage vorm. 1 g Chinin verabreicht wurde. Darum wird abends abermals 1 g, am 9. morgens wieder 1 g Chinin verabreicht, worauf weitere Temperatursteigerungen nicht eintreten.

Bei 17—18 ° C.

25. 19. Septbr. Von Rusz saugen *Anopheles* Blut bei 26 ° $^1/_2$ Stunde lang und werden sodann gleich zu 17 ° C gestellt; die Temperatur schwankt weiter beständig zwischen 17—18 ° C. Hier stehen sie 6 Tage, dann stelle ich sie zu 25 ° C 10 Tage lang.

Am 10. Tage finde ich von 12 einen, mit 13—15 μ großen Oocysten, infiziert.

18 *Anopheles*, die zur selben Zeit gestochen hatten, wurden zu 30 ° C gestellt, von diesen waren 9 infiziert.

26. 18. Septbr. Von Füzesi saugen 8 *Anopheles* Blut einzeln aus einer Eprouvette und werden gleich zu 18 ° C gestellt; die Temperatur sinkt an den folgenden Tagen auf 17 °, bald 16 °.

Am 5. Tage werden 4 getötet, am Magen des einen finden wir mehr als 60 Stück 7 μ große Oocysten, an dem eines anderen eine einzige Oocyste von derselben Größe.

Von 2 *Anopheles*, die zur selben Zeit Blut saugen und bei 30 ° C gehalten wurden, sind beide infiziert.

27. 29. Septbr. abends. Von Füzesi lasse ich 3 *Anopheles* auf dieselbe Art Blut saugen und stelle sie sogleich zu 18 ° C, nach 5 Tagen leben 2, diese sind nicht infiziert.

Bei 16 ° C.

28. 25. Oktober. Von K. Bot, mit sehr vielen *Praecox*-Gameten im Blute, in einem Gesichtsfelde auch 2—3, saugen *Anopheles* bei 26 ° C $^1/_2$ Stunde lang und werden gleich zu 16 ° C gestellt. Die Temperatur steigt an den folgenden Tagen bis 17 ° C.

Nach 10 Tagen stelle ich sie zu 30 ° C; am 13. Tage werden alle 15 getötet, keiner ist infiziert.

Von solchen *Anopheles*, die zur selben Zeit Blut saugen und bei 20 ° C gehalten wurden, waren 6 infiziert.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

II. Bei einer zweiten Gruppe unserer Experimente verfuhren wir derart, daß wir die *Anopheles* früher bei entsprechender Temperatur infizierten, und sie dann niedrigen Temperaturen aussetzten, wobei beobachtet wurde, ob die Entwickelung der Sporocysten, bezw. die Infektion der Speicheldrüsen zu stande kommt.

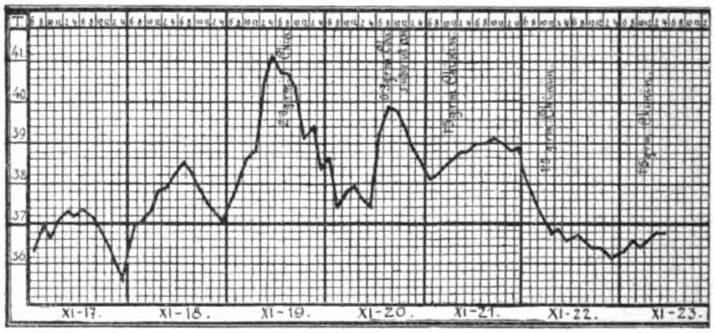
29. 24. Septbr. Von Füzesi lassen wir Blut saugen und lassen die *Anopheles* dann 12 Stunden hindurch bei 30 ° C; von dieser Zeit an werden sie dann fortwährend zwischen 17—15 ° gehalten.

Am 1. Oktober saugen dieselben abermals von Füzesi Blut, werden dann 12 Stunden lang zu 30 °, und danach zu 16 ° zurückgestellt.

Am 16. Tage finden wir am Magen des einen 11—13 μ große Cysten, die normal aussehen, nur mehr durchscheinend sind.

Am 33. Tage finden wir an einem mehr als 140 Stück 18—40 μ große, normal aussehende Oocysten.

Am 7. Novbr. abends 6 Uhr wird XIV. F. L. von 2 dieser *Anopheles* gestochen; beide wurden am 15. getötet; am Magen der beiden befanden sich viel geplatzte Kapseln, einige 46 μ große Sporoblasten und wenige 16 μ große degenerierte Cysten. Die Speicheldrüsen sind bei beiden stark infiziert.



XIV . F.L.

F. L. ist bis 18. Novbr. fieberfrei, dann steigt in den Abendstunden die Temperatur bis 38,5 °, klagt über Kopfschmerz, Unwohlsein. Die Erkrankung geht also mit 11-tägiger Inkubationsdauer einher.

Am 19. morgens fällt die Temperatur auf 37 °, erhebt sich aber mittags, von Frostschauer begleitet, auf 41 °; im Blute finden wir jetzt zum ersten Male halbmondbildende Parasiten.

Trotzdem nachmittags 2,0 g Chinin gegeben wurde, steigt die Temperatur am 20. wieder auf 39,9 °, und trotzdem subkutan und per os große Chinindosen einverleibt wurden, kam ein Fieberanfall, der 48 Stunden andauerte, und nur nach dessen Ablaufen treten Temperatursteigerungen nicht mehr auf und schwinden die Parasiten aus dem Blute.

30. 25. Septbr. Von Füzesi saugen *Anopheles* Blut bei 27 ° und werden dann 12 Stunden zu 30 ° gestellt. Von dieser Zeit an werden sie kontinuierlich so gehalten, daß sie 12 Stunden im Eisschranke bei 8—10 °, und 12 Stunden bei 30 ° zu stehen kommen.

Am 1. Septbr. lassen wir abermals von Füzesi Blut saugen und stellen sie dann auf 12 Stunden zu 30 ° C.

Nach 6 Tagen finden sich an 2 von 4 11—13 μ große Oocysten.

Nach 8 Tagen an 3 von 5 20—22 μ große sich entwickelnde normale Sporoblasten.

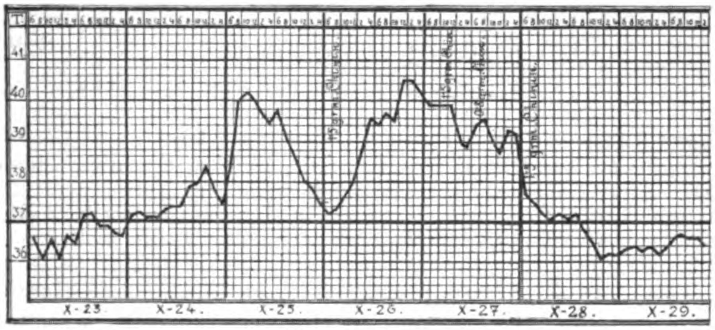
Am 13. Tage sehen wir an einem 7—9 μ große Oocysten.

Am 14. Tage finden wir an einem 2 44 μ große ganz fertige Sporocysten und einen 16 μ großen Sporoblasten.

Am 13. Oktober vorm. $^1/_2$11 Uhr wurde XV. D. S., 27 Jahre alt, von 2 gestochen, und werden diese dann bald bei 30 °, bald bei 12 ° gehalten.

Am 18. vorm. lasse ich einen wieder auf D. S. zu Stich, der zweite ging zu Grunde. Am Magen dieses letzteren war nichts zu sehen, in einem Gange der Speicheldrüsen waren viele Sporozoiten.

Bei der Sektion des anderen, welcher auch ein zweites Mal gestochen hat, am 23. fanden wir am Magen 10—12 leere Kapseln und einige 26—30 μ große, sich nicht normal entwickelnde Sporoblasten. In einer Speicheldrüse sind Sporozoiten sichtbar.



XV. D. S.

Bis 23. Oktober ist D. S. fieberfrei, an diesem Abend Körpertemperatur 37,2°, etwas Kopfschmerz und Frösteln. Am 24. den ganzen Tag subfebril, steigt die Temperatur nachts auf 38,9 ° und am nächsten Tage hohes Fieber, das bis abends andauert; das Maximum beträgt in den Vormittagsstunden 40,2 °. Die Temperatur fällt am 26. früh auf 37,2 °, doch trotz des diesmal verabreichten 1,5 g Chinins steigt die Temperatur um Mittag wieder an und es entwickelt sich ein schwerer, 48 Stunden dauernder Anfall, wobei die Temperatur sich fortwährend um 40 ° herumbewegt, erst nach per os und subkutan verabreichtem Chinin bleibt das Fieber weg. Am 25. früh finden wir im Blute viel halbmondbildende Parasiten.

31. Am 25. Septbr. lassen wir von Füzesi bei 27 ° Blut saugen und stellen die *Anopheles* einen Tag lang zu 30 ° C; von da an werden sie nun abwechselnd von früh bis abends bei 20 ° C, von abends bis früh bei 8—10 ° gehalten. Von 13 waren 11 infiziert.

Am 8. Tage zählen wir an einem 12 Stunden 9 μ große, ziemlich normale kleine Oocysten; an einem anderen mehrere Cysten von den kleinsten bis zu 9 Teilstriche; in diesen größeren befinden sich 4—5 größere Pigmentanhäufungen, die von einem lichten Hof umgeben sind, das Hyalin der Cyste ist durchscheinender, nicht so konsistent als normal.

Am 16. Tage töten wir 3; in jedem sind viele, 12—39 Stück, 13—15 μ große genügend normale Oocysten.

Am 26. Tage finden wir von 2 getöteten an einem 6 Stück 33—44 μ große fertige Sporocysten, die nahezu normal aussehen, bloß der lichtbrechende Chromatinkern der Sporozoiten ist nicht gut bemerkbar. Außer diesen sind kleinere Sporoblasten und an beiden 4—5 Stück 15—18 μ große schlaffwandige Cysten, deren Inhalt ganz durchscheinend, dünnflüssig ist, darin befindet sich je eine lichtbrechende große Kugel und die Pigmentkörner sind in lebhaft tanzender Bewegung.

Am 21. Oktober abends 6 Uhr lassen wir XVI. L. T. durch einen *Anopheles* stechen; dieser wird nach 4 Tagen seziert, am Magen sind kleine Cysten, in den Speicheldrüsen keine Sporozoiten.

Am 25. abends lassen wir einen anderen abermals auf L. F. zu Stich, dieser letztere *Anopheles* wird am 31. Oktober seziert, doch lassen sich weder am Magen noch in den Speicheldrüsen Spuren von einer Infektion auffinden.

L. F. erkrankt nicht.

32. 18. Septbr. Von Füzesi saugen *Anopheles* bei 30 ° und werden dann zu 21 ° gestellt. Hier stehen sie 4mal 24 Stunden und kommen dann zu 8 ° in den Eisschrank, wo sie auch 4 Tage (bis 27. Septbr. abends) stehen und werden wieder zu 20 ° C zurückgestellt.

Am 29. Septbr. töte ich einen, an diesem sind 40—50 Stück 7—9 μ große normale Oocysten.

Nun werden sie wieder zu 8 ° C in den Eisschrank gestellt bis 4. Oktober abends. Am diesmal getöteten sind viele 11 μ große normale Oocysten, viele 7 μ große von stark lichtbrechenden Körnern erfüllte und einige sich eben durchbohrende, noch wurmartige Ookineten zu finden.

Versuche mit *Laverania malariae.*

Unter sehr vielen erfolglosen Versuchen gelang es uns 2mal *Lav. mal.*-Gameten in *Anopheles claviger* zur Weiterentwickelung zu bringen.

Am 3. Februar lassen wir von S. **Pap** mit viertägigem Wechselfieber seit 5 Monaten und viel *Laverania*-Gameten im Blute, *Anopheles claviger* bei 27 ° ½ Stunde lang Blut saugen, und stellen die eine Hälfte derselben zu 20° C, die andere zu 24 ° C.

Die zu 20 ° C gestellten stehen beständig bei 19—20 ° C. Von 12 waren 3 infiziert.

Am 6. Tage finden wir an 2 von 4 8—10 Stück kleine *Laverania*-Oocysten.

Am 13. Tage sind am Magen des einen von 10 viele Sporoblastoiden zu sehen.

Von den bei 14 ° C stehenden fand sich am 7. Tage am Magen des einen von 3 20 Stück Oocysten; größer als die gleichalterigen Cysten der bei 20 ° stehenden.

Da jedoch von den *Anopheles* viele zu Grunde gingen, stellte ich auch diesen Käfig zu 20 ° hinüber.

Am 11. Tage fanden wir von 3 am Magen des einen einige Sporoblastoiden und einen Sporozoitoblast.

Wir konnten die Entwickelung der Sporocysten nicht weiter beobachten, weil alle *Anopheles* zu Grunde gingen.

Am 26. Oktober abends lassen wir von einem Pat. namens **Marosi** Blut saugen, dieser leidet schon seit August an viertägigen Schüttelfrösten, hatte während seines Aufenthaltes in der Klinik 3 typische intermittierende Quartanaanfälle, und im Blute viele *Laverania*-Gameten.

Das Blutsaugen geschieht bei 27 ° C ½ Stunde lang, dann stellen wir einen Teil der blutgesättigten *Anopheles* zu 20 ° C, den anderen zu 24 ° C.

In den 4 der bei 24 ° C stehenden konnten wir die Entwickelung der *Laverania*-cysten nicht beobachten.

Von den bei 20 ° C stehenden töten wir 4 am 14. Tage nach dem Blutsaugen, in einem finden wir 6 Stück 20 μ große *Laverania*-Oocysten, eine derselben war sogar schon zum Sporoblastoid entwickelt.

Am 21. Tage töteten wir 5; von diesen fanden wir am Magen des einen 12 Stück 50—55 μ große *Laverania*-Sporocysten, noch keine war geplatzt.

Von den *Anopheles* lebten nur noch 3; doch die Inokulation mißlang, da kein einziger infiziert war.

Unsere Untersuchungen zeigen also, daß die Entwickelung der geschlechtlichen Generation des *Plasmodium vivax* in den *Anopheles claviger* am besten und raschesten vor sich geht, wenn diese sich ständig bei einer Temperatur zwischen 24—30 ° C befinden.

Höhere Temperaturen als 30 ° C, z. B. 35—37 ° — wie ein Experiment zu schließen gestattet — verzögern die Entwickelung der Cysten des *Plasmodium vivax*, und auch aus dem histologischen Befunde ist es ersichtlich, daß sie einen nachteiligen Einfluß ausüben.

Auch gehen die *Anopheles* im Thermostaten bei diesen Temperaturen ohnedies rasch zu Grunde.

Wenn sich die *Anopheles* bei Temperaturen ständig unter 24 ° C befinden, erstreckt sich die Entwickelung der geschlechtlichen Generation des *Plasmodium vivax* auf eine viel längere Zeit, so daß, wenn wir bei 24 ° C schon am 10. Tage fertige Sporocysten finden, finden wir bei 21 ° C erst nach 19 Tagen, also nach doppelt so langer Zeit fertige, platzende Sporocysten, in bei 17—15 ° C gehaltenen aber erst nach 53 Tagen.

Andererseits zeigen die bei diesen niedrigen Temperaturen an der Magenwand der *Anopheles* sich entwickelnden Cysten fehlerhafte Entwickelung, so daß in den meisten unserer durch *Plasmodium vivax* infizierten *Anopheles*, die ständig bei Temperaturen unter 17—16 ° C gehalten wurden, am Magen bloß degenerierte und nicht Sporozoiten enthaltende Cysten zu finden waren, demzufolge wurden in *Anopheles*, die bei solchen

Temperaturen gehalten wurden, auch die Speicheldrüsen nicht durch Sporozoiten infiziert, und ihr Stich brachte keine Erkrankung an den Inokulationsmedien hervor, auch dann nicht, wenn die Cysten schon geplatzt waren und ihr Inhalt in den Körper gedrungen war.

So konnten wir keine Erkrankung beobachten bei unseren Versuchen I—IV, ebenso erfolgte die Malaria-Inokulation nicht in den Versuchen V—VI, in welchen die *Anopheles*, nachdem sie *Plasmodium vivax*-Gameten enthaltendes Blut gesogen hatten, nicht sofort zu derartigen niedrigen Temperaturen gestellt wurden, sondern erst nach einem einwöchentlichen Aufenthalt bei 20 ° C.

Doch ist es vorgekommen, daß wir auch im *Anopheles*, der noch vom Zeitpunkte des Blutsaugens an bei 17—15 ° C gehalten wurde, normal aussehende, mit Sporozoiten gefüllte Sporocysten gefunden haben, und auf Grund unserer Beobachtungen an *Haemamoeba praecox* können wir annehmen, daß der Stich dieses *Anopheles* die Erkrankung verursacht hätte.

Wenn die *Anopheles* vom Zeitpunkte des Blutsaugens an ständig bei Temperaturen unter 16 ° gehalten werden, entwickeln sich an ihrer Magenwand keine Cysten, da die Gameten schon in einem früheren Entwickelungsstadium zu Grunde gehen.

Unsere auf *Haemamoeba praecox* bezüglichen Untersuchungen zeigten, daß die Cysten der *Haemamoeba praecox* sich am raschesten und regelmäßigsten in *Anopheles* entwickelten, die sich ständig bei 30—24 ° C befinden.

Ueber den Einfluß höherer Temperaturen auf ihre Entwickelung haben wir keine Erfahrung.

Bei niedrigen Temperaturen als diese brauchen die *Haemamoeba praecox*-Gameten immer mehr und mehr Zeit, um sich zu Sporocysten zu entwickeln, so daß z. B. während im bei 30 ° C gehaltenen *Anopheles* die Sporocysten am 8.—9. Tage schon vollkommen reif sind, fanden wir in bei 20 ° C gehaltenen erst um den 20. Tag herum Sporocysten.

Bei Temperaturen unter 20 ° C zieht sich die Entwickelungszeit der Sporocysten sehr in die Länge, doch erhellt aus unseren Versuchen, daß sich noch in manchen *Anopheles*, die vom Augenblick des Blutsaugens ständig zwischen 18—16 ° stehen, unter vielen fehlerhaft entwickelten Cysten auch normale Sporocysten sich entwickeln.

Bei 17—16 ° C befindet sich jedoch die untere Grenze der zur Entwicklung der Sporocysten erforderlichen Temperatur. Wenn die Temperatur vom Augenblick des Blutsaugens an ständig niedriger ist als diese, entwickeln sich aus den aufgesogenen Gameten keine Cysten.

Ist die Entwickelung der Cysten bei höheren Temperaturen als 16—17 ° C bereits im Zuge, dann entwickeln sie sich zu Sporocysten auch dann, wenn die Temperatur, bei welcher sich die *Anopheles* befinden, vorübergehend auf 8—9 ° C herabfällt, oder auch, wenn sich die Temperatur ständig zwischen 17—15 ° C bewegt. In solchen Fällen fanden wir unter vielen degenerierten, fehlerhaft entwickelten Cysten ganz normal entwickelte Sporocysten, und der Stich der bei dieser Temperatur infizierten *Anopheles* hat die Malariaerkrankung auch zu stande gebracht.

Unsere Untersuchungen sind nicht zahlreich genug, um sich eine klare Vorstellung über den Einfluß zu bilden, den die Temperatur auf die geschlechtliche Generation der einzelnen Parasitenarten, die in den *Anopheles* zur Entwickelung gelangt, ausübt.

Es wären viel zahlreichere zu diesem Zwecke gemachte Beobachtungen erforderlich, um sich darüber orientieren zu können, welchen Einfluß die Temperatur auf die bei Malariaepidemieen sich darbietenden Erscheinungen ausübt.

Soviel erhellt jedoch aus unseren Untersuchungen, daß die Entwickelung der geschlechtlichen Generationen der *Plasm. vivax* und *Haemamoeba praecox*-Art in betreff des Temperaturerfordernisses von einander nicht so wesentlich abweicht, daß man daraus die verschiedene geographische Verbreitung und das verschiedene Auftreten der beiden Arten erklären könnte.

Unsere Untersuchungen zeigten nämlich, daß die geschlechtliche Generation sowohl des *Pl. vivax* als auch des *H. praecox* am besten zwischen 24—30 ° C gedeiht; bei niedrigeren Temperaturen weniger gut, und die untere Temperaturgrenze für die Entwickelung beider ist eine vom Augenblick des Blutsaugens an ständig unter 16 ° C stehende Temperatur.

Bei niedrigeren Temperaturen vom Moment des Blutsaugens an entwickeln sich die Sporocysten weder des *Pl. vivax* noch der *H. praecox*.

In einer im Centralblatt f. Bakteriol. Bd. XXXVI[1]), erschienenen Arbeit konnten wir nachweisen, daß die Infektion der *Anopheles* sowohl durch *Pl. vivax*- als durch *H. praecox*-Gameten auch bei sehr niedrigen Temperaturen in den Stunden nach dem Blutsaugen zu stande kommt, wenn die *Anopheles* später in eine entsprechend temperierte Umgebung kommen.

Es besteht also zwischen den zwei Arten auch hier kein Unterschied.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß das verschiedene zeitliche Auftreten und die verschiedene geographische Verbreitung nicht die Folge von verschiedenen Temperaturerfordernissen sind.

Wir inokulierten mit Erfolg in 10 Fällen, ohne Erfolg in 5 Fällen; in allen 5 Fällen waren die *Anopheles* durch *Pl. vivax*-Gameten infiziert, wurden aber bei Temperaturen unter 17 ° C gehalten.

Wir bemerken jedoch, daß diese erfolglosen Inokulationen keineswegs das beweisen, daß in bei 17 ° C gehaltenen und durch *Pl. vivax* infizierten *Anopheles* sich Sporocysten nicht entwickeln können und diese mittels Inokulation Wechselfieber durchaus nicht hervorrufen können, denn auch unter den *Anopheles*, mit welchen wir diese Inokulationen durchführten, fanden sich solche, in welchen normal entwickelte Sporocysten waren.

Allenfalls kommt das jedoch nur mitunter vor, die meisten Cysten zeigen fehlerhafte Entwickelung, Sporozoiten entwickeln sich nicht in ihnen, und der *Anopheles* propagiert das Wechselfieber nicht.

Es war Sache des Zufalls, daß gerade die durch *Pl. vivax* infizierten und bei und unter 17 ° C gehaltenen *Anopheles* die Malaria nicht übermittelten, die durch *H. praecox* infizierten und bei denselben Temperaturen gehaltenen *Anopheles* hingegen die Malaria inokulierten; es ist dies ein Beweis dafür, daß die untere Temperaturgrenze, bei welcher sich noch Sporocysten entwickeln, bei *Pl. vivax* nicht niedriger ist als bei *H. praecox*.

---

[1]) Jancsó, N., Zur Frage der Infektion der *Anopheles claviger* mit Malariaparasiten bei niederer Temperatur.

Aus unseren Inokulationen ist ersichtlich, daß das Inkubationsstadium des Wechselfiebers und die Schwere der Erkrankung gemäß den Parasitenarten Unterschiede aufweisen; von der Temperatur, bei welcher die infizierten *Anopheles* gehalten wurden, und — vielleicht einige extreme Fälle ausgenommen — auch von der Zahl der inokulierenden *Anopheles* jedoch unabhängig sind.

Da wir die Inokulationen selbst an den dazu sich freiwillig Erbotenen, nur mit der größten Vorsicht und nur in der absolut notwendigen Zahl auszuführen die Absicht hatten, so konnten diese natürlich nur den Zweck haben, ähnliche Versuche anderer zu ergänzen.

Mit durch *Pl. vivax* infizierten *Anopheles* inokulierten zu mehreren Malen Bastianelli und Bignami.

Bei manchen der Inokulationen, die von letzteren ausgeführt wurden, ist nicht genau ersichtlich, bei welchen Temperaturen die *Anopheles* infiziert wurden, auch nicht, wie viel gestochen haben, auch kann man die Inkubationszeit nicht pünktlich berechnen.

Ein Versuch wurde im November, 3 andere wurden im Dezember mit im Freien eingefangenen *Anopheles* durchgeführt. Als Inkubationszeit finden sie den 17.—19. Tag.

Einen Versuch führten sie im Juli aus, dabei infizierten sie die *Anopheles* bei 25 ° C, später bei 30 ° C, und lassen bei zwei Gelegenheiten denselben Kranken durch 2 *Anopheles* stechen; diesmal fanden sie 18-tägige Inkubationsdauer.

In unserem Fall, wo die *Anopheles* ständig bei 18—20 ° C gehalten und zum Stechen 6 Stück verwendet wurden, betrug die Inkubationszeit 10 Tage.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei unseren Fällen die Inkubationszeit darum kürzer ist, weil wir mit der Berechnung der Inkubationsdauer bis zu den kleinen Temperatursteigerungen zurückgehen, die während des Prodromalstadiums zu beobachten waren; und wir hatten Gelegenheit, auch 2—3 solche kleinere Temperaturerhöhungen vor Eintritt des ausgesprochenen Schüttelfrostes zu beobachten. Lassen wir diese kleinen Temperaturerhöhungen unberücksichtigt, so beträgt die Inkubationszeit 15 Tage; Bastianelli und Bignami hingegen berechnen, wie wir aus ihrem Berichte entnehmen, die Inkubation bis zum ersten Schüttelfrost.

Bei *H. praecox* beobachteten wir 7—14-tägige Inkubationsdauer, unabhängig von der Zahl der *Anopheles*, die den betreffenden stachen und unabhängig von der Temperatur, bei welcher die *Anopheles* infiziert wurden.

In einem Falle, bei welchem die Inkubationszeit 11 Tage, und in jenem Falle, bei dem sie 14 Tage betrug, erhielten die betreffenden während der Inkubationsdauer mehrmals Chinin.

Grassi, Bastianelli und Bignami beobachteten bei *H. praecox* 10—12-tägige Inkubationsdauer.

Aus unseren, und auch aus den Beobachtungen anderer gewannen wir den Eindruck, daß die Inkubationszeit wechselt, und daß ihre Dauer wesentlich von individuellen Eigentümlichkeiten der Inokulierten abhängt.

Bei unseren Inokulierten ging den ausgesprochenen Schüttelfrösten, bezw. dem hohen Fieber, ein Prodromalstadium voran, das einige Tage andauerte, und durch Allgemeinsymptome und kleinere Temperatursteigerungen charakterisiert war.

Das Fieber steigt gewöhnlich successive an, und nur selten erreicht die erste Temperatursteigerung einen höheren Grad.

Die Schwere der Erkrankung wie auch der Fieberverlauf war in unseren Fällen unabhängig von der Zahl der inokulierenden *Anopheles*, unabhängig von der Temperatur, bei welcher dieselben infiziert wurden. Wir beobachteten ebenso schwere Erkrankungen und hohes Fieber, z. B. nach dem Stich der bei 17—15 ° C infizierten *Anopheles*, als nach dem Stich der *Anopheles*, die sich bei 30 ° C infiziert hatten.

Wenn wir die Fieberkurven, Symptome, die wir bei den Inokulationen beobachteten, mit denjenigen Fällen vergleichen, die durch *Anopheles* hervorgerufen wurden, welche aus einem umgestoßenen Mückenkäfig zufällig entwichen waren[1]), und die fast einer Versuchsserie gleichkommen, gewinnen wir geradezu den Eindruck, daß die Schwere der Erkrankung und der Temperaturverlauf hauptsächlich von individuellen Eigentümlichkeiten abhängt.

Wir sehen unter diesen einen Fall, bei welchem die Anfälle fast 48 Stunden andauerten, mit schwerem, hohem Fieber einhergingen, währenddessen der Kranke delirierte, somnolent war und die Apyrexie kaum einige Stunden betrug, während im anderen Falle die Erkrankung, welche durch den Stich der bei derselben Temperstur, und von demselben Kranken infizierten *Anopheles* hervorgerufen wurde, einen sehr milden Verlauf nahm, die Anfälle bestehen aus kaum wenige Stunden lang andauernden Temperatursteigerungen, zwischen den Anfällen ist ein fieberfreier Tag, an welchem der Kranke seine anstrengende Tagesarbeit zu verrichten im stande ist.

Nachdruck verboten.

Nachtrag zum Beitrag zur Trypanosomenfrage.

Von Dr. **Hans Ziemann.**

In dem Aufsatz, erschienen Heft 3 und 4, ist bei Beschreibung des *Trypanosoma vivax* noch folgender Zusatz zu machen:

Die bei Schafen und Ziegen beobachteten allerjüngsten äußerst zierlichen, vorn und hinten spitz ausgezogenen Formen waren sogar nur 12—14 μ lang, etwa $1-1^1/_2$ μ breit und zeichneten sich, wie auch die bei den Kühen gefundenen, durch das äußerst kurze, manchmal kaum angedeutete Flagellum aus. Die undulierende Membran ist färberisch schwer darzustellen, sehr deutlich dagegen stets der am hintersten Körperende befindliche Blepharoplast und der Kern. Die geringe Entwickelung des Flagellum, besonders in den jüngsten Stadien, dürfte das Fehlen der dem *Trypanosoma brucei* eigenen, mehr oder weniger rotierenden Bewegung erklären.

---

[1]) Jancsó, M., Ueber eine in der Universitätsklinik entstandene Malaria-Hausendemie. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXVI.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein gastrotoxisches Serum,

mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen.

[Aus dem Institute für Pathologie und Bakteriologie zu Bukarest (Direktor: Prof. Dr. V. Babes).]

Von

A. Theohari,
ao. Professor der internen Pathologie
an der Universität zu Jassy.

A. Babes,
Professor der Chemie, Vorstand der
chemischen Abteilung am Institute für
Pathologie und Bakteriologie zu
Bukarest.

Mit 1 Tafel.

Es ist bekannt, daß, wenn man einem Tiere unter die Haut, in das Peritoneum oder in den Blutkreislauf Zellelemente von einem Tiere anderer Species einspritzt, der Organismus des injizierten Tieres Substanzen bereitet, die im stande sind, diese fremden Zellelemente zu zerstören.

Man nannte diese Substanzen Cytolysine. Ein Cytolysin, das einem Tiere derselben Species eingespritzt wird, von der die Zellelemente herrühren, spielt die Rolle eines wirklichen Giftes, das auf die Zell- und Tierart, von welchen dasselbe stammt, absolut spezifisch wirkt.

In letzter Analyse verschmilzt das Studium der Cytolysine mit der Immunität. In der Tat ist die Bereitung von Substanzen, die im stande sind, die fremden Zellen und deren schädliche Erzeugnisse zu vernichten, eine Art der Verteidigung.

Das Studium der Cytolysine bildet heutzutage eine sehr reichhaltige Literatur. In derselben finden sich hervorragende Arbeiten über die Bildung, die Wirkung und die noch nicht geklärte Abstammung dieser Cytolysine. Sie werfen neues Licht auf die Frage der Immunität. Es ist durchaus nicht unsere Absicht, auf diese Frage auch nur vorübergehend einzugehen. Wir beschränken uns nur darauf, die Cytolysine anzuführen, die bis jetzt bekannt sind.

Seit den grundlegenden Arbeiten Bordets (1) über das Hämolysin, das sozusagen ein typisches Cytolysin ist, versuchte man, wie gegen die roten Blutkörperchen spezifische Sera auch gegen andere Zellarten zu bereiten. Wir nennen von diesen das spezifische Serum gegen das Flimmerepithel oder Trychotoxin [v. Dungern (2)], das Spermotoxin [Metschnikoff (3)], das leukotoxische Serum [Metschnikoff (4), Glotin (5)], das nephrotoxische Serum [Nefedieff (6), Lindemann (7)]. Später erzielte man ein antihepatisches Serum [Délzenne (8), Deutsch (9), Cantacuzène (10)], ein neurotoxisches Serum [Délzenne (11), Cantovi (12)], ein pankreatisches Cytotoxin [Surmont (13), Cridallo (14), negative Resultate], ein Nebennierentoxin [Bigard et Bernard (15)], ein spezifisches Serum gegen die Schilddrüse [Gontscharokofo (16)]. Schließlich erwähnen wir noch das myelotoxische Serum [Sulli (17)], das cardiotoxische Serum [Cantanni und Ravenna (18)] und das Eierstockscytotoxin [Ceconi und Robecchi (19)].

Bemerken wollen wir noch, daß diese sämtlichen anticellulären Sera keine Auflösung der Elemente herbeiführen, wie dies beim Hämolysin in Gegenwart von Blutkörperchen der Fall ist. Sie veranlassen mehr oder weniger deutliche histologische Aenderungen, das Aufhören der Bewegungen der Flimmerhaare und der Spermatozoen, sowie schwere Erscheinungen, die den Tod des Tieres zur Folge haben, wenn es sich um lebenswichtige Organe handelt.

Wir haben versucht, ein spezifisches Serum gegen die Magenschleimhaut des Hundes zu erzielen, insbesondere gegen die Schleimhaut des großen Blindsackes (peptische Region). Wir nannten dieses Serum der Kürze halber Gastrotoxin oder gastrotoxisches Serum.

Wenn wir dies neue Cytolysin erzielen wollten, so geschah es nicht deshalb, um die soeben angeführte Liste der Cytotoxine zu verlängern. Es handelte sich namentlich um den von einem von uns schon lange verfolgten Zweck, eine feste Beziehung zwischen dem histologischen Verhalten der Magenschleimhaut und dem Chemismus des Magens nachzuweisen. In der Tat weiß man, daß die Verfasser, die dieses Verhältnis am Menschen nachzuweisen suchten, sich daran stoßen, daß eine starke Selbstverdauung des Magens kurz nach dem Tode und selbst während des Todeskampfes stattfindet. Im übrigen wenn auch das Studium des Menschenmagens im stande ist, über die groben Veränderungen der Schleimhaut (Atrophie, Sklerose) Auskunft zu geben, so kann dasselbe doch nichts Genaueres liefern über die feine Struktur der Magenzellen in pathologischen Zuständen. Tatsächlich konnte einer von uns beobachten, daß der Hundemagen schon $^1/_4$ Stunde nach dem Tode ganz und gar unbrauchbar wird, um an demselben Zellveränderungen zu verfolgen. Man sieht sich also veranlaßt, zum Experiment seine Zuflucht zu nehmen, um eine Gegenüberstellung der feinen Struktur der Sekretionszellen und der chemischen Bildung der sezernierten Flüssigkeit zu erzielen.

Wir waren der Ansicht, daß wir mit einem spezifischen Serum viel leichter Aenderungen in der feinen Struktur der Magenzellen erzielen würden und infolgedessen einen gleichzeitigen Wechsel im Chemismus des Magens. Unsere Annahme ist teilweise bestätigt worden. Wir haben in vorläufigen Mitteilungen einen Teil unserer Ergebnisse veröffentlicht und geben an dieser Stelle unsere Versuche und die sich an diese anschließenden Feststellungen.

Die Bereitung des Gastrotoxins.

Wir verwendeten die Magenschleimhaut des Hundes, die wir nach der Verreibung und Emulsionierung derselben einer Ziege unter die Haut einspritzten.

Man nimmt Hunde, die einen Tag hindurch gehungert haben, damit der Magen leer ist. Das Tier wird mittels Chloroform in eine tiefe Narkose versetzt und nun durchschneidet man die A. carotid., damit die inneren Organe möglichst blutleer seien. Der Magen wird aseptisch herausgenommen und der großen Krümmung entlang geöffnet. Darauf folgt eine reichliche Waschung mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Schleimhaut des großen Blindsackes (peptische Region) wird dann rasch reseziert; dieselbe läßt sich im übrigen leicht von den darunterliegenden

Schichten trennen, indem die Submucosa sehr locker ist. Die Mucosa wird in kleine Stückchen zerlegt, die dann in einem sterilisierten Mörser mit Hilfe des hinzugefügten grobkörnigen Schmirgels zerrieben werden, ohne Schmirgel ist es in der Tat unmöglich, eine geeignete Verreibung zu erzielen. Wir waren gezwungen, zu diesem Behelf zu greifen, da wir nicht den elektrischen Verreiber, den Borrel im Institut Pasteur zu Paris verwendet, zur Verfügung hatten. Die mittels der Verreibung erzielte Paste wird mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, der noch 1 Prom. Salicylsäure zugefügt wird. Diese Emulsion wird dann durch mehrschichtige sterilisierte Gaze durchgelassen, die so die groben Körner des Schmirgels zurückhält. Nach dieser groben Filtrierung ist die Emulsion fertig, um eingespritzt zu werden.

Sämtliche vorhin angegebenen Vorsichtsmaßregeln in Bezug auf das vorsorgliche Waschen der Schleimhaut, der Hinzufügung von Salicylsäure sind durchaus notwendig. In der Tat beschränkten wir uns anfangs auf eine oberflächliche Waschung und aseptisches Verfahren. Die so erzielte Emulsion gab aber beim Kaninchen tödliche Infektionen mit zahlreichen Mikrobien. Eine Ziege starb infolge von akutem Oedem der vorderen Extremität und des Unterleibes. Die von Prof. P. Riegler, Vorstand der Veterinärabteilung des Institutes, dem wir für seine stete Liebenswürdigkeit bestens danken, gemachten Kulturen zeigten das Bakterium des malignen Oedems in Reinkultur. Es ergab sich hieraus die Notwendigkeit, Maßregeln zu ergreifen, insofern es sich darum handelt, aus der Schleimhaut eines Organs, das im normalen Zustande weit davon entfernt ist aseptisch zu sein, eine Emulsion zu Injektionszwecken herzustellen.

Wie wir bereits angaben, wählten wir die Ziege für die Einspritzung der so bereiteten Emulsion. Da wir für unsere späteren Versuche eine große Menge Serums benötigten, so war die Ziege dazu besonders geeignet.

Die Emulsion wurde unter die Haut eingespritzt, an der inneren Seite der Hinterbeine. Nach der Einspritzung bemerkten wir immer lokale (schmerzhafte Schwellung) und allgemeine Reaktion (Fieber, Niedergeschlagenheit, Weigerung der Nahrungsaufnahme). Nach mehreren Einspritzungen sind diese Reaktionen bedeutend geringer: Weniger starke Schwellung mit voller Zerteilung, weniger Fieber, fast gar keine Niedergeschlagenheit.

Nach einer Anzahl von Einspritzungen wurde unter den üblichen Maßnahmen Blut aus der Jugularis entnommen. Die blutenthaltenden Gefäße wurden bei 8° aufbewahrt; der vom Serum sich absondernde Blutkuchen wurde 1 Tag nach der Blutentnahme abgesondert und gleichfalls bei derselben Temperatur aufbewahrt.

Im Verlaufe unserer Versuche verwendeten wir das von 2 Ziegen stammende Serum. Wir geben hier das Datum der Einspritzung, die Menge der jedesmal eingespritzten Schleimhaut, den Tag der Blutentnahme. Diese Angaben werden uns bei den Schlußfolgerungen über die Maximumwirkung des Serums unserer Ziegen und über die durchschnittliche Dauer der Wirksamkeit dienlich sein.

Ziege No. 2.

Schwarz. 36 kg schwer. Temperatur vor dem Versuch 38,6° C.

1. Einspritzung.

24. Sept. 1902. Es werden 6 g der nach der angegebenen Methode bereiteten Schleimhautemulsion eingespritzt. 5 Uhr abends Temperatur 39,4° C.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

25. Sept. Schmerzhafte Schwellung in der Gegend der Einspritzung. Der Fuß wird ein wenig nachgeschleppt. 9 Uhr morgens 39,7° C, 5 Uhr abends 39,2° C.

26. Sept. 9 Uhr morgens 39,2° C, 6 Uhr abends 39,6° C.

27. Sept. 10 Uhr morgens 39° C, 5 Uhr abends 39,5° C.

28. Sept. Die lokale Schwellung ist bedeutend verringert. Die morgens und abends genommene Temperatur steigt nicht mehr auf 39° C.

2. Einspritzung.

3. Okt. 1902. Es werden morgens an der anderen Seite 10 g Schleimhaut eingespritzt. 6 Uhr abends Temperatur 40,1° C.

Das Tier ist sehr niedergeschlagen; verweigert die Nahrung. Starke lokale Schwellung.

4. Okt. 9 Uhr morgens 39,6° C, 5 Uhr abends 39,8° C.

Das Tier ist weniger niedergeschlagen; nimmt Nahrung.

5. Okt. 9 Uhr morgens 39,2° C, 5 1/2 Uhr abends 39,4° C.

Der Allgemeinzustand ist gut; Schwellung fortdauernd.

6. Okt. 10 Uhr morgens 39,3° C, 6 Uhr abends 39,1° C.

7. Okt. 8 Uhr morgens 38,9° C, 6 Uhr abends 38,9° C.

In den folgenden Tagen steigt die Temperatur nicht mehr auf 39° C. Die lokale Schwellung hat sich zerteilt, so daß nur noch ein nußgroßer Knoten zurückblieb. Das Tier ist etwas abgemagert.

3. Einspritzung.

17. Okt. 1902. Neuerliche Einspritzung von 18 g Schleimhaut. 6 Uhr abends Temperatur 39,8° C.

18. Okt. 8 Uhr morgens 39,5° C, 5 Uhr abends 39,7° C.

19. Okt. 9 Uhr morgens 38,9° C, 5 Uhr abends 38,5° C.

Trotz der niedrigen Temperatur ist das Tier traurig. Große lokale Schwellung.

20. Okt. 9 Uhr morgens 39,1° C, 5 Uhr abends 39,4° C.

21. Okt. 9 Uhr morgens 38,9° C, 6 Uhr abends 39,2° C.

22. Okt. Es bildet sich ein großer Absceß in der Gegend der Einspritzung. Incision. Waschung. Das Tier ist vollkommen wieder hergestellt.

1. Blutentnahme am 20. Okt. Etwa 300 ccm.
2. Blutentnahme am 5. Nov. Die gleiche Quantität.

4. Einspritzung.

10. Nov. 1902. Einspritzung von 25 g Schleimhaut. 5 Uhr abends Temperatur 38,8° C.

11. Nov. 9 Uhr morgens 39,2° C, 5 1/2 Uhr abends 39,5° C.

Stark ausgesprochenes, schmerzhaftes, nur wenig hartes Oedem.

12. Nov. 8 Uhr morgens 38,9° C, 6 Uhr abends 39,1° C.

13. Nov. 8 1/2 Uhr morgens 38,8° C.

Der örtliche Zustand ist bedeutend gebessert.

In den folgenden Tagen bleibt die Temperatur auf gleicher Höhe. Die örtliche Schwellung ist zurückgegangen.

3. Blutentnahme am 16. Nov. 300—400 ccm Blut.
4. Blutentnahme am 21. Dez. Etwa 500 ccm.
5. Blutentnahme am 31. Dez. Etwa 400 ccm.

5. Einspritzung.

4. Jan. 1903. Es werden von neuem 5 g Schleimhaut eingespritzt.

Von nun an verzichten wir darauf, die Temperaturen anzuführen, da dies die Krankengeschichte unserer Tiere zu sehr verlängern würde. Die folgenden Einspritzungen gaben ähnliche Temperatursteigerungen wie die vorangegangenen. Nach mehreren Einspritzungen, insbesondere wenn dieselben nicht in zu weiten Zwischenräumen verabreicht wurden, waren die lokale und die allgemeine Reaktion weniger ausgesprochen als zu Beginn oder nachdem 1 Monat seit der letzten Einspritzung verstrichen war.

6. Blutentnahme am 8. Jan. Etwa 250 ccm Blut.

6. Einspritzung.

11. Jan. 1903. Neuerliche Einspritzung von 16 g emulsionierter Schleimhaut, die beinahe fast gar keine Temperatursteigerung zur Folge hatte. Lokal geringe, rasch zurückgegangene Schwellung.

7. Blutentnahme am 16. Jan. 250 g Blut.
8. Blutentnahme am 23. Jan. 500 g.

7. Einspritzung.

1. **Febr. 1903.** Einspritzung von etwa 10 g Schleimhaut.
9. **Blutentnahme** am 6. Febr. 250 g.

8. Einspritzung.

22. **Febr. 1903.** Einspritzung von 14 g Schleimhaut.
10. **Blutentnahme** am 27. Febr. 400 ccm.
11. **Blutentnahme** am 14. März. Etwa 400 ccm.

9. Einspritzung.

23. **März 1903.** Einspritzung von etwa 18 g Schleimhaut.

Das Tier beginnt abzumagern, so daß die Schleimhauteinspritzungen in größeren Zwischenräumen verabreicht werden.

12. **Blutentnahme** am 1. April. 350 ccm.

10. Einspritzung.

17. **April 1903.** Einspritzung von 15 g Schleimhaut.

11. Einspritzung.

26. **April 1903.** Es werden 20 g emulsionierter Schleimhaut eingespritzt.
13. **Blutentnahme** am 8. Mai. 500 ccm.
14. **Blutentnahme** am 18. Mai. 500 ccm.
15. **Blutentnahme** am 4. Juni. 500 ccm.
16. **Blutentnahme** am 25. Juni. 450 ccm.

Ziege No. 3.

Grau, 45 kg schwer.

Die bei dem vorigen Tiere mitgeteilten Einzelheiten, betreffend die lokale und die allgemeine Reaktion, gelten auch für dieses Versuchstier. Damit die Arbeit nicht so ausführlich werde, unterlassen wir es ebenfalls, auf die Versuche näher einzugehen und beschränken uns auf die Anführung der Daten, die sich auf die Schleimhauteinspritzung und die Blutentnahme beziehen. Diese Einzelheiten sind erforderlich, weil wir uns bei den Versuchen an den Hunden auf diese beziehen.

1. Einspritzung.

8. **Dez. 1902.** 15 g emulsionierte Schleimhaut.

2. Einspritzung.

15. **Dez. 1902.** Etwa 23 g Schleimhaut.
1. **Blutentnahme** am 21. Dez. 500 ccm.
2. **Blutentnahme** am 31. Dez. 500 ccm.

3. Einspritzung.

4. **Jan. 1903.** Es werden von neuem 18 g Schleimhaut eingespritzt.
3. **Blutentnahme** am 8. Jan. 300 ccm.

4. Einspritzung.

11. **Jan. 1903.** 16 g Schleimhaut.
4. **Blutentnahme** am 16. Jan. 400 ccm.
5. **Blutentnahme** am 23. Jan. 250 ccm.

5. Einspritzung.

1. **Febr. 1903.** 15 g Schleimhaut.
6. **Blutentnahme** am 6 Febr. 450 ccm.

6. Einspritzung.

22. **Febr. 1903.** 16 g Schleimhaut.
7. **Blutentnahme** am 27. Febr. 400 ccm.
8. **Blutentnahme** am 13. März. 300 ccm.

7. Einspritzung.

22. **März 1903.** 18 g Schleimhaut.
9. **Blutentnahme** am 1. April. 500 ccm.

Wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich ist, bekam die Ziege No. 2 Einspritzungen von Hundemagenschleimhaut in zu Beginn recht kurzen

Zwischenräumen. Später wurden die Einspritzungen eine Zeitlang unterbrochen, um beurteilen zu können, wie lange Zeit nach der letzten Einspritzung das Serum aktiv bleibt. Schließlich wurden die Einspritzungen von neuem in nahen Zwischenräumen verabreicht. Außerdem bekam dieses Tier im Verhältnis zu seinem Körpergewicht genügend große Mengen emulsionierter Schleimhaut. Es ist das die Ziege, die uns stets das wirksamste Serum geliefert hatte. Bei der Ziege No. 3 arbeiteten wir unter abweichenden Versuchsbedingungen. Die Einspritzungen wurden in größeren Zwischenräumen gemacht, die Dosen der eingespritzten Schleimhaut waren im Verhältnis zum Körpergewicht des Tieres geringer. Diese Ziege lieferte uns ein schwaches Serum, das uns in einer bestimmten Anzahl von Versuchen sehr nützlich war.

Versuche am Hunde. Unsere Versuche beziehen sich im ganzen auf 56 Hunde. Dessenungeachtet schildern wir hier nur die an jenen Tieren gemachten Beobachtungen, die ein nennenswertes Interesse beanspruchen dürften, um die Arbeit nicht über Gebühr auszudehnen.

Subkutane Serumeinspritzungen.

Hund No. 1, 12 kg schwer.

27. Okt. 1902. Subkutane Einspritzung von 45 ccm Serum von der Ziege No. 2 (Blutentnahme vom 26. Okt.).

Nicht die geringsten Allgemeinerscheinungen am Tiere, weder umgehend noch später.

Hund No. 2, 10 kg schwer.

1. Nov. 1902. Subkutane Einspritzung von 60 ccm Serum (vom 26. Okt.) von der Ziege No. 2.

Weder am ersten noch in den folgenden Tagen nicht die geringste Aenderung des Normalzustandes des Tieres.

Hund No. 3, 15 kg schwer.

15. Nov. 1902. Das Tier bekommt ein Probefrühstück von 60 g Brot, das in 250 g destilliertem Wasser zerbröckelt wurde, dem 5 g Zucker zugesetzt werden. Nach 1 Stunde Entnahme des Magensaftes.

Die nach der Methode Hayem-Winter gemachte Analyse lieferte folgende Ziffern:

Gesamtsäure (A) = 137
Freie Salzsäure (H) = 0
Organisch gebundenes Chlor (C) = 135
(H + C) = 138
Gesamtchlor (T) = 279
Fixes Chlor (F) = 141
Repport $\frac{T}{F}$ = 1,97
Koeffizient $\frac{A-H}{C}$ (α) = 0,99

17. Nov. Subkutane Einspritzung von 60 ccm Serum von der Ziege No. 2 (Blutentnahme vom 16. Nov.). Im Laufe des Tages konnte nichts Besonderes im Allgemeinzustande des Tieres bemerkt werden. In den folgenden Tagen Bildung eines Abscesses in der Gegend der Einspritzung. Incision. Waschungen.

25. Nov. Einspritzung von 30 ccm von dem gleichen Serum.

1. Dez. Neuerliche subkutane Einspritzung von 30 ccm desselben Serums. Seit der letzten Einspritzung ist das Tier stark gefräßig, was aber dessen Abmagerung nicht verhindert.

20. Dez. Dieselbe Gefräßigkeit. Das Tier bekommt ein Probefrühstück wie oben. Nach 1 Stunde wird der Magensaft entnommen. Die nach der Methode Hayem-Winter gemachte Analyse lieferte folgende Werte (sehr reichliche Flüssigkeit, rasche Filtrierung):

Gesamtsäure (A) = 149
Freie Salzsäure (H) = 73
Organisch gebundenes Chlor (C) = 102
(H + C) = 175
Gesamtchlor (T) = 387
Repport $\frac{T}{F}$ = 1,84
$\frac{A-H}{C}$ = 0,86

Es sei ein für allemal bemerkt, daß die nach der Methode Hayem-Winter angegebenen Werte Milligramme darstellen; die Werte sind auf 100 ccm Magensaft berechnet.

Am 25. Dez. wird der Magensaft von neuem untersucht; wir wollen nur bemerken, daß die Salzsäure = 58 war.

Am 30. Dez. gibt die Analyse (nach dem Probefrühstück) folgende Ziffern:

Gesamtsäure (A) = 314 Gesamtchlor (T) = 420
Freie Salzsäure (H) = 84 Fixes Chlor (F) = 139
Organisch gebundenes Chlor (C) = 197
Chlorhydrie (H + C) = 281 $\frac{T}{F} = 3{,}02$

Die Flüssigkeitsmenge ist sehr reichlich, leichte Filtrierung.

Da das Tier sehr abgemagert war, beschlossen wir, es in Beobachtung zu halten, denn wenn es verendet wäre, hätten wir die Untersuchung der feinen Struktur der Magenzellen verloren. Wir sahen uns also verpflichtet, dasselbe am 2. Jan. 1903 zu opfern. Es geschah dies gegen die 8. Stunde nach der Verdauung. Makroskopisch war an der Schleimhaut nichts Besonderes zu bemerken.

Histologische Untersuchung: Wir wollen hier ein für allemal angeben, welche Technik wir verwendet haben, um diese unsere Präparate zu untersuchen. Wie es einer von uns in einer früheren Arbeit bereits auseinandergesetzt hat, gibt das 10-proz. Formol, vom Standpunkte der Fixation, die besten Resultate für die Magenschleimhaut. Man verdünnt also das im Handel vorhandene Formol (das 40-proz. ist) mit 3 Teilen Wasser. Die kleinen Schleimhautstückchen, die auf Korkstückchen fixiert sind, verbleiben 24 Stunden in dieser Fixierflüssigkeit. Zum Zwecke einer guten Fixierung und namentlich für die Anfertigung von Schnitten ist es unerläßlich, die Schleimhaut von den unter ihr liegenden Schichten zu trennen, was leicht auszuführen ist.

Darauf werden die Präparate in Paraffin eingeschlossen. Die Schnitte, die sehr dünn sein müssen, werden in verschiedener Art gefärbt, je nachdem man das Zellnetz, die Basalfäden, die Pepsinogengranulationen etc. sichtbar machen will. Im übrigen bemerken wir bei der histologischen Beschreibung die verschiedenen in Anwendung gebrachten Färbeverfahren.

Schilderung der Schnitte: Die Schleimhaut des großen Magenblindsackes (peptische Region) bietet folgenden Zustand bei der mikroskopischen Untersuchung. Eine erste Serie von Schnitten ist mit Hämatein gefärbt worden mit der sich anschließenden Färbung mittels sauren Fuchsins (Entfärbung mit Pikrinsäure) nach der Altmannschen Methode. Bei der Untersuchung der Drüsen- und Zelltopographie: Die 2 Zellarten (Haupt- und Randzellen) sind nicht gewuchert. Man findet keine Kernmitosen. Zwischen den Drüsen findet man keinen Leukocytenandrang und keine Zeichen einer Tätigkeit fixer Zellen. An der Oberfläche der Schleimhaut, zwischen dem Drüsenhals und dem Oberflächenepithel findet man einige erweiterte Epithelien, die rote Blutkörperchen enthalten. In derselben Gegend findet man geringe bindegewebige Verdickung.

Die Untersuchung der feineren Struktur der Zellen, die an demselben Schnitte mittels Immersionslinse ausgeführt wurde, zeigt folgende Einzelheiten: Die große Mehrzahl der Randzellen ist intakt; die Kerne sind normal; die acidophilen Granulationen des Cytoplasmas gut gefärbt. In der Umgebung des Kernes findet sich ein kleiner, heller, zentraler Raum (Fig. 14), das Ergebnis der Anhäufung der Zellgranulationen an der Peripherie.

Andererseits finden sich in einer Anzahl mikroskopischer Gesichtsfelder (nicht in allen) einige vakuolisierte Randzellen, die im großen und ganzen ein großes Reticulum darstellen. Nahe an der Oberfläche sind diese gefensterten Zellen zahlreicher und bilden eine übrigens unterbrochene einzigartige Zellschicht. In den Vakuolen dieser Randzellen sieht man recht deutlich Spirillen, die mittels sauren Fuchsins lebhaft rot gefärbt sind (Fig. 15).

Die Hauptzellen zeigen ein Reticulum mit trübem Maschenwerk, durch Hämatein schwach violett gefärbt. Die Basalportion dieser Zellen, ebenfalls mit Hämatein gefärbt, ist kaum angedeutet; dieselbe ist zu einem sehr dünnen violetten Streifen reduziert. Die äußere Portion wird von einem länglichen Kettchen acidophiler Granulationen durchsetzt, die sehr wohl in vielen Zellen sichtbar sind. Von seiten des Kernes ist nichts zu bemerken.

An einer anderen Serie von Schnitten, die mittels Safranin gefärbt und durch saures Violett entfärbt sind, sieht man, daß die Hauptzellen von dicken Pepsinogengranulationen durchsetzt sind.

Hund No. 4, 13 kg schwer.

1. Jan. 1903. Der Magensaft wird nach einem Probefrühstück (1 Tag vorher hatten die Tiere immer gefastet) entnommen; nach der Methode Hayem-Winter werden folgende Werte erzielt:

Gesamtsäure (A) = 165
Freie Salzsäure (H) = 0 $\frac{T}{F} = 2{,}31$
Organisch gebundenes Chlor (C) = 206
Gesamtchlor (T) = 366 $\frac{A-H}{C} = 0{,}80$
Fixes Chlor (F) = 158

An demselben Tage werden demselben subkutan 45 ccm Serum (vom 31. Dez. 1902) von der Ziege No. 2 eingespritzt. In den folgenden Tagen große lokale Schwellung.

18. Jan. Subkutane Einspritzung von 75 ccm Serum (vom 16. Jan.) von derselben Ziege. Obwohl das Serum sehr sauber aufgefangen und aufbewahrt wurde (dasselbe ist sehr klar), tritt in den folgenden Tagen ein Absceß auf, der incidiert und gewaschen werden mußte. Das Tier zeigt keine Anomalie von seiten des Magens.

25. Jan. Subkutane Einspritzung von 60 ccm Serum (vom 23. Jan.) von derselben Ziege. Dem Serum sind 0,5 Kreosot zugesetzt worden, die mit einigen Tropfen Alkohol und destilliertem Wasser vermischt wurden. Keine Eiterung in den darauffolgenden Tagen.

8. Febr. Subkutane Einspritzung von 70 ccm eines Gemisches gleicher Teile von den Ziegen No. 2 und 3 gelieferten Serums (vom 6. Febr.).

13. Febr. Das Tier bietet nichts Besonderes von seiten seines Magens. Die Analyse des Magensaftes gibt folgende Resultate:

Gesamtsäure (A) = 146
Freie Salzsäure (H) = 0
Organisch gebundenes Chlor (C) = 118
Gesamtchlor (T) = 360
Fixes Chlor (F) = 248

$$\frac{T}{F} = 1{,}44 \qquad \frac{A-H}{C} = 1{,}30$$

Hund No. 5, 12 kg schwer.

15. März 1903. Entnahme des Magensaftes nach Probefrühstück. Die Analyse (Hayem-Winter) gibt folgende Werte:

Gesamtsäure (A) = 292
Freie Salzsäure (H) = 0
Organisch gebundenes Chlor (C) = 226
Gesamtchlor (T) = 408
Fixes Chlor (F) = 182

An demselben Tage Einspritzung von 50 ccm Serum vom 13. März (Mischung gleicher Teile Serums von den Ziegen No. 2 und 3).

21. März. Einspritzung von 50 ccm gleichen Gemenges. In den folgenden Tagen Absceßbildung.

3. April. Subkutane Einspritzung von 32 ccm Serum (Mischung vom 1. April).

14. April. Das Tier zeigt nicht die geringsten gastrischen Symptome. Trotzdem wird der Magensaft analysiert mit folgendem Ergebnis:

Gesamtsäure (A) = 215
Freie Salzsäure (H) = 14
Organisch gebundenes Chlor (C) = 139
Chlorhydrie (H + C) = 153
Gesamtchlor (T) = 357
Fixes Chlor (F) = 204

Eine neuerliche Analyse, die nach 10 Tagen gemacht wird, zeigt beinahe dieselben Werte.

Vorderhand ziehen wir keinerlei Schluß aus den bisher mitgeteilten Versuchen, in welchen die Einspritzungen des Serums in das Unterhautzellgewebe stattgefunden haben. Wir behalten es uns vor, darauf zurückzukommen, nachdem wir unsere sämtlichen Versuche an Hunden geschildert haben werden, indem wir es versuchen wollen, die sich hieraus ergebenden Schlüsse zusammenzufassen. Vorderhand bemerken wir, daß die ersten Versuche mit unserem subkutan einverleibten Serum uns daran denken ließen, daß wir es mit einem wenig wirksamen Produkt zu tun hätten. Allein, wie später gezeigt werden wird, haben die an Hunden gemachten intravenösen Einspritzungen unseren diesbezüglichen Standpunkt ganz und gar geändert.

Intravenöse Einspritzungen von gastrotoxischem Serum. Noch vor der Vornahme der Versuche hieß es sich darüber Gewißheit zu verschaffen, wie normales Blutserum von Ziegen auf Hunde nach intravenöser Einspritzung zu wirken im stande sei.
versuche sind also ebenfalls angestellt worden.

Intravenöse Einspritzung von normalem Serum. Dieser Versuch ist an zahlreichen Tieren ausgeführt worden, von denen wir nur zwei anführen wollen.

Hund No. 6, 15 kg schwer.

19. Nov. 1902. Intravenöse Einspritzung von 60 ccm normalem Ziegenblutserum. Das Tier zeigt keinerlei Erscheinungen, weder bald noch später.

Hund No. 7, 7 kg 500 g schwer.

19. Nov. 1902. In die Jugularvene werden 40 ccm von einer normalen Ziege stammendes Serum eingespritzt. Keinerlei Erscheinungen, weder bald nach der Einspritzung noch später. Der Hund ist lustig und befindet sich wohl.

Nun wollen wir diejenigen Beobachtungen schildern, die wir an den Hunden gemacht haben, denen gastrotoxisches Serum in die Venen eingespritzt wurde. Die Einspritzungen lassen sich sehr leicht in die Jugularis machen nach vorheriger Rasierung der seitlichen und unteren Halsregion.

Einspritzungen von starken Dosen aktiven Serums. Die intravenösen Einspritzungen mit massiven oder geringeren Dosen dienten uns nicht nur zur Feststellung der Eigenschaften des gastrotoxischen Serums, sondern auch um annähernd den Grad der Wirksamkeit des Serums zu verschiedenen Zeitabschnitten festzustellen.

Hund No. 8, 14 kg 500 g schwer.

23. Nov. 1902. In die Jugularvene werden 60 ccm von der Ziege No. 2 (vom 16. Nov.) gelieferten Serums eingespritzt. Schon während der Einspritzung ist das Tier aufgeregt und kann sich nicht mehr auf den Beinen halten; es fällt auf die Seite, während die Extremitäten inkoordinierte Bewegungen machen. Nach 2—3 Minuten tritt an die Stelle der Aufgeregtheit ein subkomatöser Zustand. Das Tier atmet tief, beschleunigt, krampfartig. Konjunktivalreflex ist nicht mehr vorhanden. Die Atmung wird immer langsamer, so daß das Tier 10—15 Minuten nach der Einspritzung verendet.

Sektion: Der Magen wird sofort geöffnet, von dem Stücke für die histologische Untersuchung entnommen werden.

Makroskopisch zeigt die Schleimhaut des Magens eine starke Kongestion. Dieselbe ist bläulichrot oder wie dunkelroter Wein. Dieselbe Färbung trifft man an der Schleimhaut des Dünndarms. Keine dergleichen Hyperämie in irgend einem der inneren Organe.

Histologische Untersuchung: An der Oberfläche der Schleimhaut erweiterte Kapillaren, die mit roten Blutkörperchen gefüllt sind. Die Hauptzellen zeigen einen wohlerhaltenen Kern. Das cytoplasmasche Reticulum ist in der ganzen Ausdehnung der Zelle sichtbar; der Mascheninhalt ist hell; es finden sich nur Spuren von Basalfäden. Mittels safraninsaurem Violett wird festgestellt, daß die Hauptzellen kein Pepsinogen enthalten.

Die Randzellen sind auf den ersten Blick durch saures Fuchsin ungleichmäßig gefärbt. Viele Zellen zeigen normale acidophile Granulationen (Fig. 6). In anderen Zellen sind die Granulationen wie verwischt. Das Cytoplasma zeigt ein homogenes rosafarbiges Aussehen; auf diesem Grunde heben sich die Granulationen ab, die einen gut, die anderen schlecht gefärbt.

Diese Alteration des Cytoplasmas der Randzellen sieht man überall an der Oberfläche der Schleimhaut. Daselbst finden sich auch viele Randzellen mit normalem Kern, während andere modifizierte Kerne aufweisen (Fig. 6). Der Kern ist abgeplattet oder länglich oder aber erinnert derselbe in einigen Zellen an eine Sternform. Das Aussehen des Kernes ist durchaus homogen (Fig. 6), indem er durch Hämatein im ganzen dunkelblau gefärbt wird. Die Kerne der Randzellen, die gleichfalls als strukturlose Masse erscheinen, zeigen eine Vorliebe für saures Fuchsin, das ihnen eine dunkelrote Farbe (Fig. 10 u. 11) verleiht.

In den um die Kapillaren befindlichen Drüsen sieht man keine Leukocyten.

Hund No. 9, 15 kg 500 g schwer.

29. Nov. 1902. Intravenöse Einspritzung von 60 ccm Serum (vom 28. Nov.) von der Ziege No. 2. Nachdem er losgelassen wird, versucht derselbe sich aufzurichten, allein er schwankt und fällt auf die Seite.

Das Tier ist etwas aufgeregt, verfällt dann in Koma mit tiefer, beschleunigter, unregelmäßiger Atmung. Wie das vorige verendet auch dieses Tier 10—15 Minuten nach der Einspritzung.

Sektion: Bedeutende Hyperämie des Magens mit Bläulichfärbung der Schleimhaut. An manchen Stellen des großen Blindsackes stärker gefärbte, rote Plaques. Dieselbe Färbung findet sich an der Schleimhaut des Dünndarms.

Die histologische Untersuchung liefert neben einigen Abweichungen dieselben Resultate wie beim Hunde No. 8. Dieselbe Erweiterung der Kapillaren, namentlich an der Oberfläche der Schleimhaut. Dieselbe (morphologische) Integrität des Kernes

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

der Hauptzellen. Sie haben in diesem Falle eine wenig lebensfähige Basalportion, was durch einen dünnen bläulichen Streifen angedeutet ist; andere Zellen zeigen nur auf das ganze Cytoplasma sich erstreckende Reticulum.

Die zum großen Teil normal erscheinenden Randzellen zeigen besonders an der Oberfläche eine Art Auflösung der acidophilen Granulationen mit homogenem rosigen Grunde, woselbst die mehr oder minder gut gefärbten Granulationen sichtbar sind. Eine gewisse Anzahl von Zellen zeigt das oben beschriebene homogene Aussehen. Diese Kerne sind häufig verlängert, wurstförmig.

Die Einspritzungen von großen Dosen gastrotoxischen Serums veranlassen den blitzartig auftretenden Tod des Hundes, genau so wie ein allgemeines starkes Gift. Schwächere Dosen dieses Serums verursachen deutliche Erscheinungen von seiten des Verdauungsrohres. Indem die Giftigkeit des Serums während der 10 Versuchsmonate in weiten Grenzen schwankt, war dasselbe manchmal sehr giftig und ein anderes Mal schwächer. Es ist hieraus ersichtlich, daß wir manchmal beobachten konnten, wie 5 ccm einen raschen Tod zur Folge hatten, während wir ein anderes Mal mehr als 20 ccm einzuspritzen vermochten. Es ist dies der Grund, warum wir so zahlreiche Versuche gemacht haben.

Einspritzung geringerer Dosen aktiven Serums.

Hund No. 10, 15 kg schwer.

1. Dez. 1902. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm Serum [vom 28. Nov.[1])] von der Ziege No. 2. Während derselbe losgelöst wird, beginnt reichliches Erbrechen. Das zu Beginn aus genossener Nahrung bestehende Erbrechen wird dann schleimig. Zu gleicher Zeit hat das Tier eine normal aussehende Darmentleerung. Nach einigen Minuten ist das Tier nicht mehr im stande, sich aufrecht zu erhalten; dasselbe schwankt und fällt auf die Seite. Der Hund ist sehr niedergeschlagen und nicht im stande, sich von einer Stelle zur anderen zu bewegen. Er jammert, was wohl auf Schmerzen zurückzuführen ist. An der Bauchwand bemerkt man starke peristaltische Bewegung der Darmschlingen, die sich der Reihe nach abzeichnen. Es folgen flüssige Darmentleerungen. Etwa $^3/_4$ Stunden nach der Einspritzung hat das Tier sich ein wenig erholt; dasselbe ist nicht mehr so niedergeschlagen und richtet den Kopf in die Höhe, wenn es gerufen wird. $2^1/_2$ Stunden nach der Einspritzung sind die diarrhoischen Darmentleerungen mit Blut vermischt; das Tier verliert große Mengen hellroten Blutes. Der Hund wird $3^1/_2$ Stunden nach der Einspritzung geopfert, indem derselbe infolge der Darmblutungen hypothermisch und dem Verenden nahe ist.

Bei der Sektion findet sich eine starke Kongestion der Magenschleimhaut, die lilafarbig ist, ohne daß extravasiertes Blut im Magen angetroffen worden wäre. Die Pylorusregion bietet kein hyperämisches Aussehen.

Die Schleimhaut des Dünndarms zeigt in sämtlichen Schlingen starke Kongestion. An der Oberfläche der Schleimhaut findet sich Schleim und viel extravasiertes, zum Teil geronnenes Blut.

Die Schleimhaut des Dickdarms hat normale Färbung bewahrt und ebenso die dem Dickdarm zugewendete Fläche der Ileocökalklappe. Umgekehrt zeigt die dem Dünndarm zugekehrte Fläche der Klappe Hyperämie, genau so wie die Schleimhaut dieses Darmabschnittes.

Die histologische Untersuchung der Schleimhaut des großen Blindsackes zeigt, daß nur eine kleine Anzahl von Zellen Strukturänderungen beherbergen. Ebenso bieten eine bestimmte Anzahl Hauptzellen ein Cytoplasma samt Reticulum ohne Basalteil und mit wohlerhaltenem Kern. Namentlich ist dies an der Oberfläche der Fall. In der Tiefe der Schleimhaut zeigen die Hauptzellen einen Basalteil, nur ist derselbe recht dünn. Der Mascheninhalt ist getrübt; mittels Safranin und saurem Violett wird ersichtlich, daß die Maschen pepsinogenhaltig sind, während dies in der oberen Region der Schleimhaut nicht der Fall ist.

Eine bestimmte Anzahl von Randzellen, stets an der Oberfläche, sind stark gefärbt, andere hinwieder sind blaß. Bei starker Vergrößerung wird man sich darüber klar, daß die Granulationen wie verwischt sind. In denselben Zellen haben die Kerne ihre Form bewahrt, nur sind sie homogen und haben eine stark dunkle Färbung — ein Mittelstadium zwischen Hämatein- und saurer Fuchsinfärbung.

---

[1] In der Versuchsgeschichte der Ziege No. 2 übersahen wir die Blutentnahme vom 28. Nov. zu notieren; das von diesem Datum stammende Serum wurde von uns zu mehreren Versuchen verwendet.

In der Tiefe der Schleimhaut gibt es nur eine geringe Anzahl von Zellen, die die beschriebenen Veränderungen aufweisen. Die übrigen Zellen zeigen einen hellen Zentralraum in der Umgebung des Kernes mit Anhäufung der Granulationen an die Peripherie.

Die Kapillaren sind an der Schleimhautoberfläche erweitert und mit Blut erfüllt.

Hund No. 11, 9 kg schwer.

6. Dez. 1902. In die Jugularis werden 9 ccm Serum (vom 28. Nov.) von der Ziege No. 2 eingespritzt. Gleich darauf krampfhaftes Erbrechen, ursprünglich von Nahrungsresten, später von rosig gefärbtem Schleim. Das Tier ist niedergeschlagen und fällt auf die Seite. Es folgen diarrhoische Darmentleerungen, die immer schleimiger werden. Etwa 2 Stunden nach der Einspritzung Auftreten einer beträchtlichen Darmblutung, die sich mehrere Male wiederholt. Etwas kürzer als 4 Stunden nach der Einspritzung ist das Tier tot.

Bei der Sektion findet man wenig rosig gefärbten Schleim im Magen mit Kongestion der Schleimhaut des großen Magenblindsackes. Hortensiafarbige Hyperämie der Schleimhaut des Dünndarms bis zur Ileocökalklappe. Die Schleimhaut des Dickdarms zeigt Normalfärbung. In Anbetracht dessen, daß die Sektion erst mehrere Stunden nach dem Tode gemacht worden ist, verzichteten wir diesmal auf die histologische Untersuchung.

Hund No. 12, 15 kg schwer.

30. Jan. 1903. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm Serum (vom 23. Jan., Ziege No. 2). Schon während der Einspritzung deutet sich Erbrechen an, das sich gleich nach der Loslassung auch einstellt. Das Tier kann sich nicht aufrecht erhalten, fällt um und ist sehr niedergeschlagen. Auftreten von Diarrhöe, nach etwa 2 Stunden geht reines Blut ab. Die Darmblutung dauert fort. 6 Stunden nach der Einspritzung wird das Tier geopfert.

Bei der Sektion werden Stückchen aus der Magen- und Darmschleimhaut rasch für die histologische Untersuchung entnommen.

Makroskopisch ist die Schleimhaut des großen Magenblindsackes stark gerötet. Im Magen findet sich etwas extravasiertes Blut. Im Darm findet sich eine sehr große Menge Blut. Nach vorangegangener Waschung sieht man, daß die Schleimhaut des Dünndarms bis zur Ileocökalklappe lebhaft rot gefärbt ist.

Die histologische Untersuchung der peptischen Region des Magens liefert folgende Resultate: Man findet eine außerordentlich starke Hyperämie. Sämtliche Kapillaren sind erweitert, an manchen Stellen zerrissen und mit Blut vollgestopft. Durch die Kapillarenerweiterung scheinen die Drüsenacini voneinander dissoziiert. Dasselbe Bild findet man im ganzen Durchschnitt der Mucosa, nicht nur, wie in den früher beschriebenen Fällen, an der Oberfläche.

Die Randzellen (Fig. 8) sind mittels saurem Fuchsin sehr ungleichmäßig gefärbt: Die einen sind stark rot, die anderen nur schwach rosa, nur daß in allen die Granulationen verwischt oder aufgelöst sind, mit voller Aufgabe ihrer Individualität. In manchen Zellen sieht man, wie auf farbigem Grunde sich einige Granulationen abheben. Andere Zellen hinwieder zeigen ein durch saures Fuchsin gleichmäßig gefärbtes Cytoplasma.

In vielen Randzellen (Fig. 8) finden sich Spirillen, die leicht durch ihre starke Färbung auffallen.

Eine gewisse Anzahl Kerne sind in den Randzellen wohlerhalten: Sie zeigen ein Kernreticulum und Chromatingranulationen. Allein die Mehrzahl der Kerne, ob in ihrer ursprünglichen Form oder nicht, zeigen ein homogenes Aussehen; sie sind stark gefärbt und zeigen eine Zwischenstufe zwischen dem Rot des Fuchsins und dem Blau des Hämateins. Vorherrschend aber ist das Rot des sauren Fuchsins.

Die Hauptzellen zeigen keine Spuren von Basalfäden, sondern nur ein Reticulum mit hellem Mascheninhalt. Mittels Safranin und saurem Violett sind keine Pepsinogengranulationen nachweisbar. Die Kerne der Hauptzellen zeigen keine merkliche Aenderung.

Die Schleimhaut des Dünndarms zeigt stark erweiterte, blutgefüllte Kapillaren; in der Gegend der Zotten finden sich zahlreiche Kapillarenrisse. In der ganzen Dicke der Schleimhaut sind äußerst zahlreiche mononukleäre Leukocyten vorhanden; nur sehr wenige sind polynukleär; an manchen Stellen bemerkt man eosinophile Zellen. An vielen Stellen zeigt das Epithel einen deutlich gestreiften Rand. Andere Zellen enthalten weite Vakuolen mit hellem Inhalt. Die in vielen Zellen normalen Kerne haben ein homogenes Aussehen; das Hamatein verleiht ihnen eine dunkelblaue Farbe, allein ohne daß es möglich wäre, die Einzelheiten des Kernbaues zu unterscheiden.

Eine Zeitlang verwendeten wir zu unseren Versuchen ein Gemisch gleicher Teile der von unseren beiden Ziegen (No. 2 und No. 3) gelieferten Sera. Später benutzten wir von neuem nur das von der Ziege

No. 2 stammende Serum. Wir geben hier in der Folge der gemachten Versuche die mit den anderen intravenösen Einspritzungen erzielten Resultate. Auf diese Weise befinden wir uns vor einer so ansehnlichen Reihe von Tatsachen, die die Wirksamkeit unseres gastrotoxischen Serums über allen Zweifel setzen.

Hund No. 13, 14 kg 600 g schwer.

7. Febr. 1903. In die Jugularis werden 24 ccm Serum (Mischung vom 6. Febr.) eingespritzt. Nach der Einspritzung befindet sich das Tier unwohl. Feste Darmentleerung. Erbrechen der genossenen Nahrung. Auftreten von immer flüssigeren, blutgefärbten Diarrhöen. Schließlich entleert sich durch den Darm nur noch reines Blut. Auf der Seite liegend, mit Hypothermie, verendet der Hund etwa 10 Stunden nach der Einspritzung.

Bei der erst am nächsten Morgen gemachten Sektion finden wir die bereits geschilderte Kongestion an der Magen- und Dünndarmschleimhaut, die mit einer großen Masse Blut gefüllt sind. Nichts in den übrigen Organen.

Hund No. 14, 12 kg 500 g schwer.

12. Febr. 1903. Intravenöse Einspritzung von 20 ccm eines Gemisches beider Sera (Ziege No. 2 und 3, Blutentnahme vom 6. Febr.). Gleich nach der Einspritzung reichliche Harnentleerung, wie dies übrigens stets und bei sämtlichen Versuchstieren beobachtet wurde. Wir bemerken dies nur nebenbei, weil es schließlich ohne große Bedeutung ist.

Einige Minuten, nachdem die Einspritzung in die Venen eingedrungen ist, Auftreten von reichlichem Erbrechen. An der Bauchwand zeichnen sich die Darmschlingen ab, die starke Bewegungen ausführen. Es stellt sich dann blutige Diarrhöe ein, die sich bald in reine Blutergüsse umwandelt. Das Tier ist 8 Stunden nach der Einspritzung agonisch, dasselbe wird geopfert, um histologisch vorwurfslose Präparate zu erzielen.

Bei der Sektion findet man im Innern des Magens ein wenig mit Schleim vermischtes Blut. Die stark kongestionierte Schleimhaut des großen Blindsackes ist dunkelrot. An einigen Stellen sieht man schwarze Flecken (hämorrhagische Ergüsse). Die Pylorusschleimhaut zeigt keine Kongestion. Der Dünndarm enthält große Massen Blut und Schleim. Die lebhaft rot gefärbte Schleimhaut behält dieses Aussehen in ihrer ganzen Ausdehnung bis zur Ileocökalklappe. Die Schleimhaut des Dickdarms hingegen zeigt keinerlei Veränderung, ebenso die übrigen Bauchorgane.

Die histologische Untersuchung liefert Resultate ähnlich jenen, die beim Hunde No. 12 festgestellt wurden, mit einigen geringen Unterschieden. Die Schleimhaut der peptischen Region zeigt erweiterte, blutgefüllte Kapillaren; es läßt sich dies an der Gesamtdicke der Schleimhaut nachweisen. Diese erweiterten Kapillaren umgeben von allen Seiten die Drüsenschläuche, die sie voneinander trennen.

Die Randzellen sind durch das saure Fuchsin zum Teil sehr stark gefärbt, zum Teil sind dieselben etwas blässer. Auf dem farbigen Zellgrund heben sich die verwischten, verstrichenen Granulationen nur schlecht ab. Manche Randzellen sind in einen homogenen, glasigen, mittels saurem Fuchsin lebhaft rot gefärbten Block umgewandelt. Einige Kerne haben ein normales Aussehen; allein die meisten Randzellenkerne sind homogen, mittels saurem Fuchsin und Hämatein einförmig gefärbt. In vielen dieser homogenen Kerne ist das Rot des sauren Fuchsins vorherrschend.

In einer großen Anzahl von Randzellen finden sich Spirillen, sogar mehr als in der Schleimhaut des Hundes No. 12. In den der Oberfläche benachbarten Randzellen findet man dicke Bakterien. Es finden sich Spirillen sowohl im Drüsenlumen wie in den Randzellen, aber nie im Innern der Hauptzellen.

Die Hauptzellen zeigen einen anscheinend normalen Kern. Ihr Cytoplasma ist von einem hellmaschigen Reticulum gebildet; Basalfäden sind nicht vorhanden. Mittels safraninsaurem Violett überzeugten wir uns, daß sie Pepsinogen nicht mehr bilden.

Die Pylorusschleimhaut zeigt keine Kapillarenerweiterung. Die Drüsenzellen zeigen nicht die geringste sichtbare Aenderung.

Die Schleimhaut des Dünndarms zeigt allgemeine Kapillarenerweiterung mit Vorhandensein von ähnlichen mononukleären Leukocyten und ähnlichen Strukturveränderungen, wie sie in Fall No. 12 geschildert wurden.

Hund No. 15, 8 kg 500 g schwer.

14. Febr. 1903. In die Jugularvene werden 5 ccm Serum (Mischung vom 6. Febr.) eingespritzt. Das Tier beginnt zu erbrechen und ist stark niedergeschlagen; schließlich stellt sich blutige Diarrhöe ein. Während der Nacht verendet das Tier, etwa 10 Stunden nach der Einspritzung.

Bei der am folgenden Tage vorgenommenen Sektion finden wir Selbstverdauung des Magens. Trotz alledem erkennt man deutlich die vorhandene Kongestion der Schleimhaut des Magens und des Dünndarms.

Hund No. 16, 16 kg schwer.

15. Febr. 1903. Intravenöse Einspritzung von 8 ccm Serum (Mischung vom 6. Febr.). Gleich nach der Einspritzung zeigt das Tier, das gehungert hatte, schleimiges Erbrechen. Es fällt auf die Seite. Darauf folgt blutgemischte Diarrhöe. Das Blut wird in geringen Mengen nach außen befördert, allein die Hämorrhagie ist andauernd. Während der Nacht, etwa 15 Stunden nach dem Eindringen des Serums in die Vene, verendet das Tier.

Bei der Sektion finden wir Selbstverdauung des Magens. Die Schleimhaut des Magens und des Dünndarms ist veilchenfarbig. Im Dünndarm findet sich viel Blut, ebenso im Dickdarm, allein die Schleimhaut des letzteren ist normal und das Blut stammt ganz bestimmt aus dem Dünndarm. Die übrigen Bauchorgane sind normal.

Hund No. 17, 15 kg schwer.

5. März 1903. Intravenöse Einspritzung von 15 ccm Serum (Mischung vom 22. Febr.). Gleich nach der Einspritzung wird das Tier niedergeschlagen, hat Erbrechen und flüssige Darmentleerung. Später reichliche Blutergüsse. Am folgenden Tage sind die Darmentleerungen noch immer gefärbt. Das Tier verendet etwa 23 Stunden nach der Einspritzung.

Bei der Sektion findet man eine äußerst starke blutige Infiltration, ein großes, die Mucosa und die Submucosa des Magenblindsackes einnehmendes Hämatom. Die Darmschleimhaut zeigt die für gewöhnlich beobachteten Kongestionen und Hämorrhagieen.

Hund No. 18, 14 kg 500 g schwer.

4. April 1903. In die Jugularvene werden 14 ccm Serum (Mischung vom 1. April, zweite Flasche) eingespritzt. Alsbald beginnt das Tier zu schwanken und zu erbrechen; es fällt auf die Seite, bekommt tiefe, unregelmäßige Atemzüge und verendet 10—15 Minuten nach der Einspritzung.

Bei der Sektion finden wir Veilchenfärbung der Magen- und Dünndarmschleimhaut, ohne daß im Innern dieser Organe extravasiertes Blut vorhanden wäre.

Hund No. 19, 13 kg schwer.

5. April 1903. Intravenöse Einspritzung von 6 ccm Serum (Mischung vom 1. April, zweite Flasche). Das Tier bekommt in der Folge Erbrechen, feste Darmentleerungen und ist dann sehr niedergeschlagen. Nach etwa 1 Stunde richtet sich dasselbe auf und scheint sich zu erholen. Allein es tritt nun blutige Diarrhöe ein, die von großen Darmblutungen gefolgt ist. Das Tier verendet etwa 7 Stunden nach der Serumeinspritzung.

Bei der Sektion finden wir das schon mehrfach beschriebene makroskopische Aussehen.

Die mikroskopische Untersuchung zeigt die Magenschleimhautveränderungen ähnlich jenen, die wir bei den Hunden No. 12 und No. 15 beschrieben haben. Die Drüsenacini sind durch erweiterte, mit roten Blutkörperchen vollgestopfte Kapillaren dissoziiert. Die Randzellen sind ungleichmäßig gefärbt. Wenig sichtbare, wie aufgelöste Granulationen. Die meisten Zellen haben ein homogenes Aussehen und sind stark gefärbt. Zahlreiche Spirillen in den Randzellen.

Die Kerne der Hauptzellen sind wohlerhalten. Die Basalfäden und die Pepsinogengranulationen konnten nicht sichtbar gemacht werden.

In der Dünndarmschleimhaut sind die Kapillaren erweitert und zerrissen. Zahlreiche mononukleäre Leukocyten. Keine Anomalieen in den übrigen inneren Organen.

Hund No. 20, 13 kg 500 g schwer.

5. Juni 1903. Intravenöse Einspritzung von 10 ccm von der Ziege No. 2 stammendes Serum (Blutentnahme vom 4. Juni). Alsbald auftretendes krampfhaftes Erbrechen. Das Tier fällt auf die Seite und beginnt tief und unregelmäßig zu atmen. Nach 10—15 Minuten ist das Tier tot.

Bei der Sektion finden wir eine starke Kongestion der Magen- und Dünndarmschleimhaut, aber kein extravasiertes Blut.

Hund No. 21, 12 kg 500 g schwer.

10. Juni 1903. In die Jugularvene werden 5 ccm Serum von der Ziege No. 2 (Blutentnahme vom 4. Juni) eingespritzt. Bald nach der Loslassung bekommt das Tier schleimiges, krampfhaftes Erbrechen und feste Darmentleerung. Das sehr niedergeschlagene Tier fällt auf die Seite und verendet nach $^{3}/_{4}$ Stunden ohne äußerlich sichtbare Darmblutungen. Bei der Sektion finden wir die Magenschleimhaut stark gerötet und ebenso diejenige des Dünndarms. Wenig extravasiertes Blut in der Darmhöhle.

Wir sind in der Lage, noch andere Versuche anzuführen, denn nach jeder Blutentnahme haben wir versucht, die geringste toxische Dose unseres Serums festzustellen. Indessen glauben wir, daß das, was wir bisher mitgeteilt haben, es uns gestatten wird, im gegebenen Augenblick über die Wirkung unseres gastrotoxischen Serums feste Schlüsse zu ziehen.

Nun wollen wir noch einige unserer Versuche anführen, die wir mit dem Serum der Ziege No. 3 angestellt haben, das, wenn auch minder toxisch als jenes der Ziege No. 2, uns doch die Möglichkeit gab, einige interessante Tatsachen feststellen zu können.

Intravenöse Einspritzungen von minder toxischem Serum (Ziege No. 3).

Hund No. 22, 12 kg schwer.

22. Dez. 1902. Intravenöse Einspritzung von 55 ccm Serum von der Ziege. No. 3 (Blutentnahme vom 21. Dez.). Nichts Auffallendes bald nach der Einspritzung, noch im Laufe des Tages. Jedoch frißt das Tier nichts in den nächsten Tagen, erbricht mehrmals am Tage rosaroten Schleim und hat mit geringen Mengen Blut vermischte Darmentleerungen. Das Tier verendet in der Nacht des 27. Dez., 5 Tage nach der Einspritzung.

Bei der Sektion finden wir Gastritis und hämorrhagische Enteritis. Die matte Darmschleimhaut zeigt verdickte Hyperämieflecken. Diese Veränderungen erstrecken sich nur bis zur Ileocökalklappe, ohne daß dergleichen an der Schleimhaut des Dickdarms zu beobachten wäre.

Die Sektion konnte erst einige Stunden nach dem Tode des Tieres vollzogen werden, so daß hier auf die histologische Untersuchung der Magenschleimhaut verzichtet wurde.

Hund No. 23, 16 kg schwer.

17. Jan. 1903. In die Jugularvene werden 40 ccm Serum von der Ziege No. 3 (Blutentnahme vom 16. Jan.) eingespritzt. Das losgelöste Tier scheint niedergeschlagen zu sein und richtet sich nicht auf; nach einigen Minuten reichliches Erbrechen der genossenen Nahrung. Etwa 2 Stunden nach der Einspritzung Auftreten von Erbrechen; die erbrochenen Massen enthalten alteriertes Blut (schwarz gefärbt). Nach 4 Stunden ist das Tier munter und hat sich scheinbar vollkommen erholt.

1 $^1/_2$ Stunden später (4 $^1/_2$ Stunden nach der Einspritzung) werden in die gegenseitige Jugularvene von neuem 32 ccm des gleichen Serums eingespritzt.

Gleich nach dieser zweiten Einspritzung ist das Tier niedergeschlagen, beginnt ein wenig zu erbrechen, was aber bald aufhört. 2 $^1/_2$ Stunden nach dieser zweiten Einspritzung ist das Tier noch immer niedergeschlagen. Dasselbe wird geopfert, um die histologische Untersuchung in guten Verhältnissen machen zu können.

Bei der Sektion findet man eine bedeutende flüssig-schleimige Hypersekretion, die den Magen und den Dünndarm ausdehnt. Die Magenschleimhaut ist leicht hyperämisch; die Kongestion ist etwas stärker in der Gegend des Dünndarms, aber nur bis zur Ileocökalklappe.

Die histologische Untersuchung liefert folgende Ergebnisse: Die Drüsenacini zeigen ein bedeutendes zentrales Lumen (Fig. 4) als Folge der geringen Höhe der Hauptzellen. Diese haben einen anscheinend normalen Kern, der gegen die Basis der Zelle verdrängt und dort angeschmiegt ist. Durch Hämatein und saures Fuchsin lassen sich keine Basalfäden nachweisen; das die ganze Zelle einnehmende Reticulum zeigt ein Maschenwerk mit trübem Inhalt. Entlang dem Reticulum und der Interstitien der Hauptzellen sieht man Streifen feiner, acidophiler, mittels saurem Fuchsin rot gefärbter Granulationen.

Mittels safraninsaurem Violett (Fig. 5) wird man sich darüber klar, daß die Hauptzellen ganz und gar mit groben Pepsinogengranulationen vollgestopft sind. Die Drüsenlumina enthalten ebenfalls Massen von Proferment.

Die Randzellen zeigen einen wohl gekennzeichneten hellen Zentralraum. Die Granulationen sind an der Peripherie angehäuft und stark zusammengedrängt. Der anscheinend normale Kern ist ebenfalls an die Peripherie geschoben.

An manchen Stellen sieht man, wie die Umrisse des stark erweiterten Exkretionskanals der Randzelle sich zwischen 2 Hauptzellen einschieben und bis zum Drüsenlumen gelangen.

Einige Randzellen sind verdickt, vakuolisiert und stellen ein Pseudoreticulum dar.

Außer einer leichten Kapillarenerweiterung ist nichts von seiten des Interstitialgewebes zu bemerken.

Hund No. 24, 12 kg 500 g schwer.

18. Jan. 1903. Intravenöse Einspritzung von 35 ccm Serum von der Ziege No. 3 (Blutentnahme vom 16. Jan.). Nach der Injektion folgt schleimiges Erbrechen, da wir das Tier 1 Tag vorher hungern ließen. Das Tier ist niedergeschlagen und liegt darnieder. Darauf folgt Diarrhöe, die aber kein Blut enthält. Etwa 5 Stunden nach der Einspritzung ist am Hunde nichts Krankhaftes zu bemerken.

5½ Stunden nach dieser letzten Serumeinspritzung werden dem Tiere von neuem 25 ccm Serum in die Vene eingespritzt. Das Tier erbricht einigemal und die diarrhoischen Darmentleerungen sind rötlich gefärbt. Es bleibt auf der Seite liegen und atmet schwer. 7 Stunden nach der ersten und 1½ Stunden nach der zweiten Einspritzung wird das Tier geopfert.

Die Sektion gestattet uns dieselben Befunde zu verzeichnen, wie sie im vorigen Falle angetroffen wurden: Sehr bedeutende Hypersekretion, suspendierte Schleimklümpchen enthaltend, die den Magen und den Dünndarm ausfüllen. Leichte Kongestion der Schleimhaut dieser beiden Organe, besonders im Dünndarm, während dies im Dickdarm nicht der Fall ist.

Bei der histologischen Untersuchung findet man noch, daß die Drüsenlumina sehr erheblich sind, viel größer als im vorigen Fall. Die etwas niedrigeren Hauptzellen haben keine Basalfäden; der Inhalt des maschigen Zellnetzes ist getrübt. Dem Netze entlang finden sich feine Streifen acidophiler Granulationen. Mittels Safranin und saurem Violett sieht man, daß die Hauptzellen von pepsinogenen Granulationen ausgefüllt sind.

Die Randzellen sind durch einen dünnen, farbigen Ring dargestellt, der von den an die Peripherie gedrängten Granulationen gebildet ist; sie umgeben einen hellen Zentralraum, der den größten Teil der Zelle einnimmt. Der peripherische Ring ist an einer Stelle kurz unterbrochen und zwar dort, wo der erweiterte Exkretionskanal zwischen die Hauptzellen hindurch sich zum Zentrallumen der Drüse hinzieht. Der Kern der Randzellen ist anscheinend kleiner und stärker blau gefärbt; er ist gegen die Peripherie der Zelle gedrängt.

Von den Drüsen ist nichts zu bemerken. An der Oberfläche der Schleimhaut findet sich eine wenig ausgesprochene Erweiterung der Kapillaren.

Hund No. 25, 14 kg 600 g schwer.

19. Jan. 1903. Intravenöse Einspritzung von 40 ccm Serum (vom 16. Jan., Ziege No. 3). Gleich darauf Erbrechen, festen Stuhl, Niedergeschlagenheit. Es folgen dann diarrhoische Darmentleerungen, die etwas alteriertes Blut enthalten (schwarz). 4 Stunden später werden von neuem 25 ccm des gleichen Serums eingespritzt. Nach 2 Stunden wird das Tier geopfert.

Bei der Sektion finden sich große Flüssigkeits- und Schleimmassen im Magen und im Dünndarm; die Schleimhaut ist hier rötlich gefärbt. Die histologische Untersuchung zeigt die geringe Höhe der Hauptzellen, die keine Basalfäden aufweisen und in ihrem Innern (ebenso wie die Drüsenlumina) große Massen von Proferment enthalten. Der Kern ist an die Zellbasis angeheftet.

Die Randzellen zeigen einen großen, hellen Zentralraum von einem peripherischen, mittels saurem Fuchsin gefärbten Ring, wo sich die scheinbar angehäuften acidophilen Granulationen vorfinden.

Während in manchen Randzellen der helle Zentralraum nur klein ist, ist in anderen die Peripherie kaum durch einen dünnen, gefärbten Streifen angedeutet. Der ganze Rest der Zelle zeigt ein helles, mittels saurem Fuchsin ungefärbt bleibendes Aussehen.

Wir wollen nun die Schlüsse ziehen, die sich aus diesen wie den vorhergehenden Versuchen ergeben, nachdem wir eine nur möglichst objektive Schilderung unserer sämtlichen Feststellungen betreffend das gastrotoxische Serum gegeben haben.

Vorderhand beschränken wir uns auf die Bemerkung, daß das von der Ziege No. 2 stammende Serum Läsionen der Magenzellen veranlaßte, die leicht zu finden waren, während der eingespritzte Hund genügend überlebte. Das Serum der Ziege No. 3 veranlaßt, wenn auch weniger toxisch, eine Hypersekretion, folglich eine sekretorische Reizung der Magenzellen. Wir nahmen an, daß, wenn wir Hunden unser von

Ziegen herrührendes Serum — nicht in tödlichen, sondern in wiederholten kleinen Dosen — einspritzen würden, wir dahin gelangen dürften, bei diesen Tieren chronische Magenläsionen zu erzeugen. Indem wir das parallele Studium des Magenchemismus verfolgten, dachten wir, daß wir hierdurch zu genaueren Feststellungen gelangen würden als unsere Vorgänger in Betreff der Verbindung zwischen dem histologischen Typus der Magenschleimhaut und seinem Sekretionsprodukt.

Um dahin zu gelangen, daß wir mittels unseres Gastrotoxins chronische Läsionen erzeugen, haben wir an zahlreichen Hunden intravenöse Serumeinspritzungen gemacht, und zwar verwendeten wir das Serum der Ziegen gesondert oder aber ein Serumgemisch.

Diese Versuche, die a priori leicht ausführbar schienen, gaben uns neben einigen positiven Tatsachen zahlreiche Mißerfolge. In der Tat, wiederholt man die Serumeinspritzungen mit geringen Dosen, so gelangt man bald zur Angewöhnung. Setzt man die Einspritzungen in derselben Dosis fort, so zeigt der Hund nicht die geringste klinische Erscheinung und die Analyse zeigt keinen wichtigen Chemismuswechsel, der es anzeigen könnte, daß eine chronische Läsion des Magens im Anzuge sei. Man muß also jedesmal die Serumdosis vergrößern. Nun kommt es aber oft vor, daß nach geringer Dosissteigerung das Tier Hämorrhagieen bekommt und verendet.

Wenn nun wiederholt intravenöse Einspritzungen gemacht werden sollen, so tritt noch eine andere Schwierigkeit zu Tage. Der Stich der Jugularis hat immer einen Bluterguß zur Folge, der die Gegend immer anschwellen läßt, so daß dann einige Tage erforderlich sind, bis die Schwellung geschwunden ist. Das nächste Mal wird die Einspritzung in die andere Jugularis gemacht. Das dritte Mal aber muß wieder in jene Vene eingespritzt werden, die schon zur ersten Einspritzung gedient hat. Hier aber dringt infolge der Anschwellung die Nadel nicht gleich in die Vene; oft wird ein Teil des Serums in das benachbarte Gewebe eingespritzt. Trotz aller Asepsie und trotz strengster Antisepsie veranlaßt doch das in das Unterhautbindegewebe eingespritzte gastrotoxische Serum entzündliches Oedem, oft sogar einen Absceß. Die von der lokalen Schwellung umringte Vene ist nach einiger Zeit gar nicht mehr zu gebrauchen, so daß an dem betreffenden Tiere weitere Versuche nicht angestellt werden können.

Wir wollen nun in chronologischer Reihenfolge eine Anzahl von Versuchen schildern, die wir zu dem Zwecke anstellten, um so subakute und chronische Zellläsionen des Magens zu erzielen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis.

[Aus dem Statens Seruminstitut in Kopenhagen.]

Klinische und experimentelle Untersuchungen.

Von **Axel Jörgensen.**

Mit 44 Figuren.

(Fortsetzung und Schluß.)

XXVIII. Valdemar G. H., 18 Jahre alt. Bl. Hosp. 15. Nov. 1901 bis 21. Febr. 1902. Plötzl. krank 5 T. v. Einbr. Stat. typh., Milzschwellung, Roseola, Diarrhöe, 22. Nov. Nasenbluten, 24. Nov. blutgemischtes Erbrechen, 3. Dez. in reg. dors. u. an Nates Furunkel u. zahlr. hämorrhag. Vesikel. 7. Dez. neue Eruption, hämorrhag. Vesikel, zerstreute Pusteln und kleine subkut. Abscesse an Femora und Nates, 18. Dez. beginnende Besserung trotz andauernder Suppurat., 29. Dez. afebril, Wohlbef., Hautaffektion stark abnehmend, 20. Jan. Absceß a. r. Femur, 25. Jan. Incision, 7. Febr. e. l. Klin. Diagnose: F. t. Furunculosis, Diathesis haemorrhagica l. gr.

XXIX. Svend L. L., 53 Jahre alt. Bl. Hosp. 14. Nov. 1901, starb 11. Dez. 1902. Prodromen 8 T., dann bettl. 4 T. v. Einbr. Stat. typh., Roseola, Meteorismus, Diarrhöe. 24. Nov. starke Schm. in r. Unterextrem., die stark geschwollen, Empfindlichkeit und Resistenz am V. saph. magn. und in Poples. 1. Dez. klagte über unbestimmte Schm. in der Brust, hustete heute ca. 100 ccm dunkelfarbige, blutige Flüssigkeit aus. Bei Stethoskopie Ronchi und feuchte Röchellaute in l. Lunge. Stethosk. des Herzens nat., Extrem. unverändert, 8. Dez. hat am letzten Tage grauschwarzes, stark stinkendes Expektorat ausgehustet. Steth. ergibt leichte Dämpfung über l. unt. Lungenlappen, große klangvolle Röchellaute und kavernöse Respir., 10. Dez. Cyanose und beg. Trachealrallen. Klin. Diagnose: F. t. Phlebitis fem. d., Infarct. gangraen. pulm. sin. (Sektion verboten.)

Schon 1897 fand Widal[1]) die Agglutininstärke im Blute der Typhuspatienten während des Verlaufes der Krankheit schwingend. In demselben Jahre teilte Courmont[2]) eine Reihe graphisch dargestellter Schwingungsbestimmungen bei Typhuspatienten mit und 3 Jahre später eine neue größere Reihe von Kurven[3]).

Trotz der unvollkommenen Technik, die eine oft starke Ungleichheit im Steigen und Fallen der Kurven bewirkte, hat Courmont doch Resultate gewonnen, die in den Grundzügen mit meinen Versuchen übereinstimmen: Ein Steigen bis zu einem Maximum und darauf ein Fallen, bis möglicherweise ein neues Steigen beginnt.

Die Agglutininentwickelung beginnt in den meisten Fällen in der 1. oder zu Anfang der 2. Krankheitswoche, und das Blut erreicht in der Regel das Maximum der Konzentration in der 3. Woche.

Auf Grund seiner zahlreichen Kurven, die er mit den dazu ge-

---

1) Widal et Sicard, La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques. (Presse méd. 1897.)

2) Courmont, Courbe agglutinante chez les typhiques. (Rev. de méd. 1897. 1900.)

3) Eine Arbeit über denselben Gegenstand:

Iversen, Jul., Ueber die Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Serums im Verlaufe des Typhus abdominalis (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLIX. 1905), sowie eine andere Arbeit über Agglutininschwingungen:

Nicolle, Ch., Suites experiences relatives au phénomène de l'agglutination (Ann. d. l'Inst. Pasteur. 1904) erschien erst, nachdem meine Abhandlung auf dänisch veröffentlicht wurde. Ich habe deshalb dieselbe nicht berücksichtigen können; übrigens scheinen sie in der Hauptsache meine Resultate zu bestätigen.

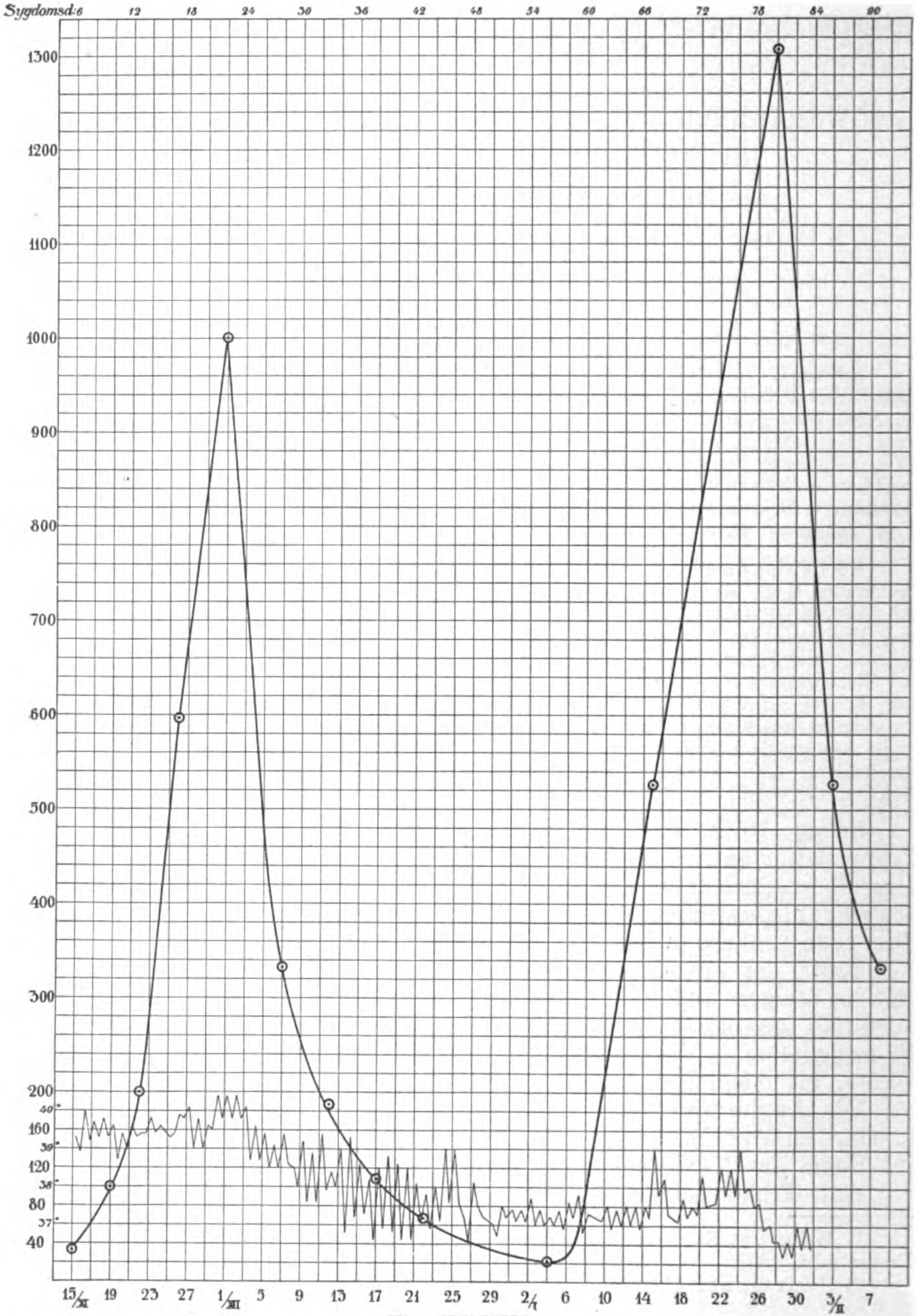


Fig. XXVIII.

hörigen Temperaturkurven zusammenstellt, sucht Courmont eine „Seroprognostik“ aufzustellen. Er geht davon aus, daß die Bildung von Agglutinin eine Verteidigungsreaktion des Organismus ist, und glaubt, daß ein bestimmtes Verhältnis besteht zwischen dem Verlaufe der Krankheit und dem der Agglutininentwickelung.

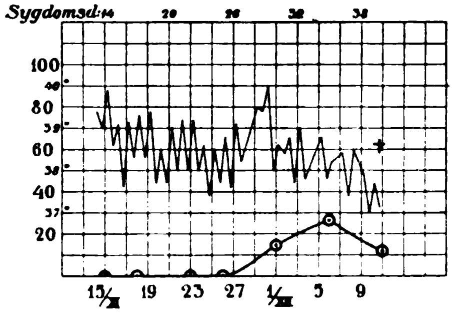


Fig. XXIX.

Die Berechtigung dieser Annahme wird von Förster[1]), Kasel und Mann[2]) und mehreren anderen, zuletzt von Jürgens[3]) stark bestritten. Auch meine 29 Fälle ergeben das Bestehen eines solchen Verhältnisses nicht.

Um inzwischen genauer zu verstehen, was diese Schwingungen eigentlich bedeuten und was es ist, was während des Krankheitsprozesses vorgeht, muß man seine Zuflucht zu Versuchen an Tieren nehmen und dadurch die Bedeutung der einzelnen Faktoren zu erkennen suchen. Ich werde deshalb im folgenden zuerst meine Untersuchungen dieser Art mitteilen und danach mit den gewonnenen Resultaten die hier dargestellten Beobachtungen am Krankenbette und deren Bedeutung für Diagnose und Prognose zu beleuchten versuchen.

Kapitel III.

Schon in seinen ersten Arbeiten über Immunisierung mit Ricin und Abrin hat Ehrlich[4]) darauf aufmerksam gemacht, daß die Entwickelung der Antistoffe gewissen Schwingungen unterworfen sei, aber erst in seiner späteren Arbeit, die er zusammen mit Brieger[5]) ausführte, verfolgt er diese eingehender. Nachdem sie früher[6]) einen Parallelismus zwischen dem Antitoxingehalt im Blute und in der Milch nachgewiesen hatten, bestimmten die Autoren den antitoxischen Wert in der Milch einer gegen Tetanus immunisierten Ziege mit kurzen Zwischenräumen und gaben mit Hilfe dieser Werte die „Tetanusantitoxinkurve".

Die unmittelbare Folge der Injektion von Toxin in das immunisierte Tier war ein bedeutender Fall der Antitoxinmenge, am 3.—4. Tage aber begannen die Werte wieder ruhig zu steigen, erreichten am 15. bis 17. Tage ihr Maximum und nahmen dann wieder ab.

In einer Reihe von weit ausführlicheren Versuchen an Pferden wiesen Salomonsen und Madsen[7]) analoge Verhältnisse für die

---

[1]) Förster, Quantitative Untersuchungen über die agglutinierende und bakterizide Wirkung des Blutserums von Typhuskranken etc. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXIV. 1897.)

[2]) Kasel und Mann, Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widalschen Serumdiagnose des Unterleibstyphus. (Münch. med. Wochenschr. 1899.)

[3]) Jürgens, Beobachtungen über die Widalsche Reaktion und die Mitagglutination der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XLIII. 1903.)

[4]) Ehrlich, Experimentelle Untersuchungen über Immunität. (Dtsche med. Wochenschr. 1891.)

[5]) Brieger und Ehrlich, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XIII. 1893.)

[6]) Brieger und Ehrlich, Ueber die Uebertragung von Immunität durch Milch. (Dtsche med. Wochenschr. 1892.)

[7]) Salomonsen et Madsen, Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897 et 1899.)

Diphtherieantitoxinkurve nach, nur erreicht das Diphtherieantitoxin sein Maximum am 9.—11. Tage nach der Injektion.

Aehnliche Resultate ergeben Deans¹) Versuche.

Untersuchungen dieser Art wurden später auf andere Antistoffe ausgedehnt. So untersuchte Morgenroth²) die Bildung von Antilabferment nach der Injektion von Labferment in Ziegen. Er fand ähnliche Schwingungen wie bei Tetanus und Diphtherie, beobachtete aber keinen Fall nach der Injektion in immunisierte Tiere, und der Antistoff erreichte sein Maximum schon am 3. Tage nach der Injektion.

Später hat Bulloch³) sich mit Hämolysin beschäftigt; hier beginnt die Entwickelung kritisch am 4. Tage nach der Injektion (von Ochsenblut in Kaninchen). Unmittelbar nach der Einspritzung in immunisierte Tiere wurde ein starkes Fallen beobachtet.

Die Botulismus-Antitoxinkurve — studiert und dargestellt von Forssman und Lundström⁴) — gleicht den anderen Kurven sehr, und in der allerneuesten Zeit hat v. Dungern⁵) nachgewiesen, daß es sich mit der Präzipitinbildung ähnlich verhält.

Was nun endlich die Bakterienantistoffe betrifft, so hatten schon 1898 Pfeiffer und Marx⁶) sich damit in ihrer bedeutungsvollen Arbeit „Die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe“ beschäftigt. Die Autoren geben an, daß der präventive Stoff sich im Blute von Meerschweinchen frühestens am 3. Tage nach der Injektion (intraperitoneal) von Cholerakultur zeigte, dann aber rasch stieg bis zum 8. Tage, um darauf langsam wieder zu verschwinden — und daß ähnliche Verhältnisse für Agglutinin gelten. Entsprechende Schwingungen fand Ladislaus Deutsch⁷) für Typhusagglutinin und „Pouvoir préventif“ und zwischen diesen beiden Antistoffen einen ausgesprochenen Parallelismus.

Diese Beobachtungen bekräftigten sich später — auch für eine Anzahl von Antistoffen anderer Mikroben — durch Untersuchungen von Levy und Bruns⁸) (B. typhi), v. Emden⁹) (B. aërogenes), Jatta¹⁰) (B. typhi), Goldberg¹¹) (B. dysent.), Wright¹²), Neufeld¹³) (Pneumoc.) und Levin¹⁴) (B. coli).

---

1) Dean, Problemes of diphtheria immunity. (Transact. of the pathol. soc. of London. 1900.)

2) Morgenroth, Ueber den Antikörper des Labenzyms. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899.)

3) Bulloch, On the nature of haemolysis and its relation to bacteriolysis. (Transact. of the pathol. soc. of London. 1901.)

4) Forssman et Lundström, Sur la marche de la courbe d'antitoxine dans l'immunisation active contre le botulisme. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.)

5) v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903.

6) Pfeiffer und Marx, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXVII. 1898.)

7) Deutsch, Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.)

8) Levy und Bruns, Beiträge zur Lehre der Agglutination. (Berl. klin. Wochenschr. 1897.)

9) v. Emden, Ueber die Bildungsstätte der agglutinierenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXX. 1899.)

10) Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coli-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXIII. 1900.)

11) Goldberg, Die Agglutinationsreaktion bei Infektionen verschiedenen Grades. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.)

12) Wright, On the changes effected by antityphoid inoculation in the bactericidal power of the blood. (The Lancet. 1901.)

13) Neufeld, Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorieen der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XL. 1902.)

14) Levin, Coliagglutinins and their course of formation. (Festkrift ved Indvielsen af Statens Seruminstitut. 1902.)

Die erste Arbeit, die sich nach einer genauen Methode mit den Schwingungen der Agglutinine im Blute beschäftigt hat und diesen Schwingungen von Tag zu Tag folgte, ist die obenerwähnte von Jörgensen und Madsen[1]).

Im folgenden Abschnitt, der die Untersuchungen über die Agglutininschwingungen im Blute von Kaninchen und Ziegen, die mit Injektionen von Bakterienkulturen behandelt wurden, umfaßt, habe ich mein Material so geordnet, daß ich 1) die Schwingungen nach einer einzelnen Injektion, dann 2) nach mehreren aufeinander folgenden Injektionen derselben Kultur und endlich 3) nach gleichzeitigen oder einander folgen-

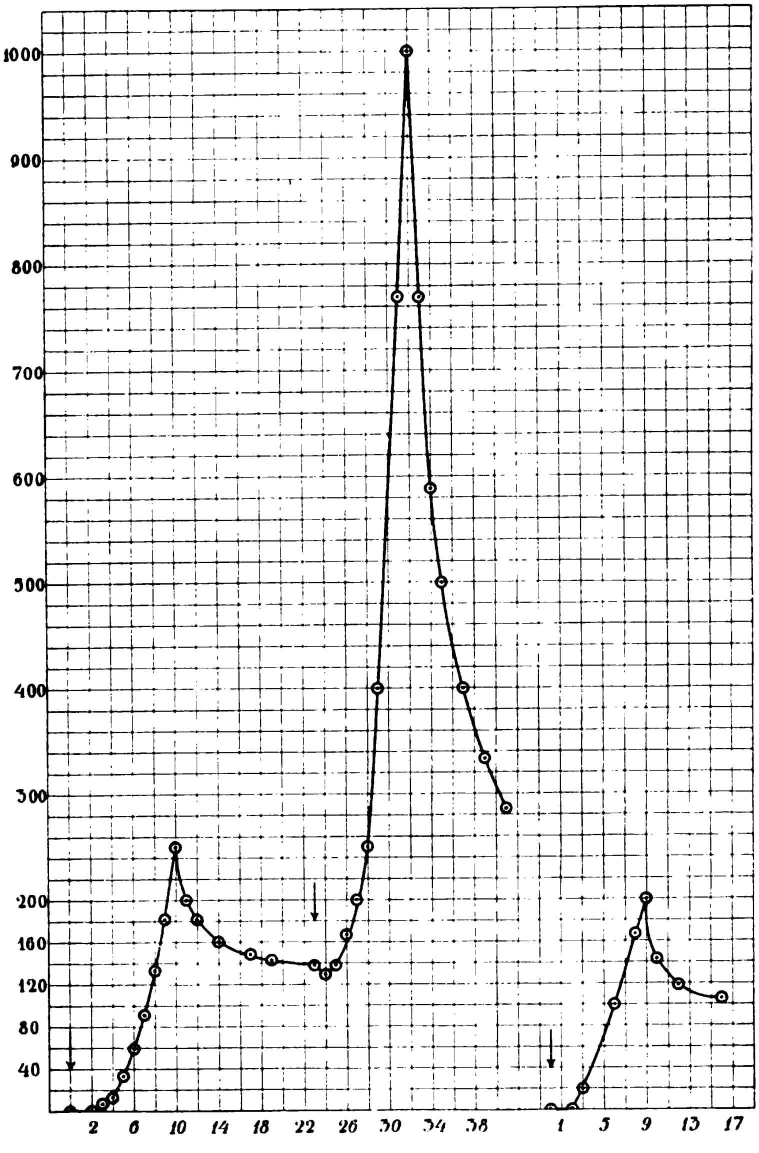


Fig. 2.

Kaninchen. Injektion von 1 ccm 24 Stunden alter Kultur von B. typh. Am 23. Versuchstage Injektion derselben Dosis und ca. $11^1/_2$ Monate später wieder dieselbe Dosis.

---

[1]) Jörgensen und Madsen, l. c.

den Injektionen von Kulturen verschiedener Bakterienformen (B. typh. und B. coli) behandle.

Die Untersuchungen über die Schwingungen der Agglutininentwickelung nach Einzelinjektionen sind an Ziegen und Kaninchen vorgenommen worden, teils an ganz frischen Tieren, teils an solchen, die früher gegen denselben Mikroben immunisiert worden waren. Bei diesen Versuchen sowie bei allen folgenden wurden die Kulturen den Kaninchen intraperitoneal, den Ziegen subkutan eingespritzt.

Untersuchungen dieser Art wurden in recht großer Anzahl und mit gleichartigem Resultate ausgeführt. Beispiele zeigen Fig. 1—5.

Die Kurve von Fig. 2 repräsentiert ein Kaninchen, das am 23. Oktober 1902 1 ccm gekochte, 24 Stunden alte Typhusbouillonkultur erhielt. Das Serum, das unmittelbar vor der Injektion und in den beiden folgenden Tagen genommen wurde, enthielt kein Agglutinin [1]. Der 3. Tag ergibt eine schwache Steigerung, die in den folgenden Tagen schnell zunimmt, bis das Serum am 10. Tage nach der Injektion seinen Maximalwert 250 erreicht. Darauf folgt ein fortgesetztes Fallen, anfangs recht schnell, dann beständig langsamer abnehmend.

Am 15. November 1902 war der Agglutininwert des Serums auf 136 gefallen und es wurde von neuem 1 ccm derselben gekochten Typhuskultur in die Peritonealhöhle des Kaninchens eingespritzt. Tags nachher wurde ein geringes Fallen auf 129 beobachtet, aber schon der folgende Tag ließ den Wert auf 139 steigen. Die Agglutininvermehrung im Blute beginnt also schon am 2. Tage nach der Injektion und steigt dann schnell bis zum Maximum am 9. Tage, um dann kontinuierlich abzunehmen.

Am 25. Oktober 1903 erhielt dasselbe Kaninchen wieder eine Injektion von 1 ccm 24 Stunden alter, gekochter Typhuskultur. Das Tier war zu diesem Zeitpunkt fast 11 Monate lang nicht zu Versuchen benutzt worden und sein Serum enthält kein nachweisbares Agglutinin. Die nach dieser Injektion gefundene Kurve gleicht ganz den vorigen. Daraus ergibt sich also, daß der Verlauf der Agglutininschwingungen nach einer einzelnen Injektion von Typhuskultur in Kaninchen der gleiche ist, ob das Tier ganz frisch oder vorher immunisiert worden ist, und im letzteren Falle, ob das Blut noch Agglutinin enthält oder nicht.

Der Verlauf bei einem Kaninchen, das auf gleiche Weise mit Kultur von B. coli behandelt wurde, ist in Fig. 3 dargestellt.

Wir finden hier ganz dieselbe Form der Agglutininwelle: nach einer Latenzzeit von 2—3 Tagen ein rasches Steigen und dann abnehmendes Fallen.

Zu dem Versuche in Fig. 4 wurde eine Ziege benutzt, die längere Zeit hindurch mit V. cholerae immunisiert worden war. Unmittelbar vor dem Versuche war der Agglutininwert des Serums 4. Nach der Injektion von 40 ccm 48-stündiger Kultur von V. cholerae gab die Agglutininentwickelung im Blute eine Kurve, die vollständig der für B. typh. und B. coli gleicht. Nach der Injektion ein geringes Fallen, dann aber ein rasches Steigen bis zum 8. Tage und ein kontinuierliches Fallen.

---

[1] Wenn der Zusatz von 0,3 ccm eines Serums keine makroskopische Reaktion hervorruft (in $1^1/_2$ ccm Kultur), wird der Agglutininwert des Serums = 0 berechnet.

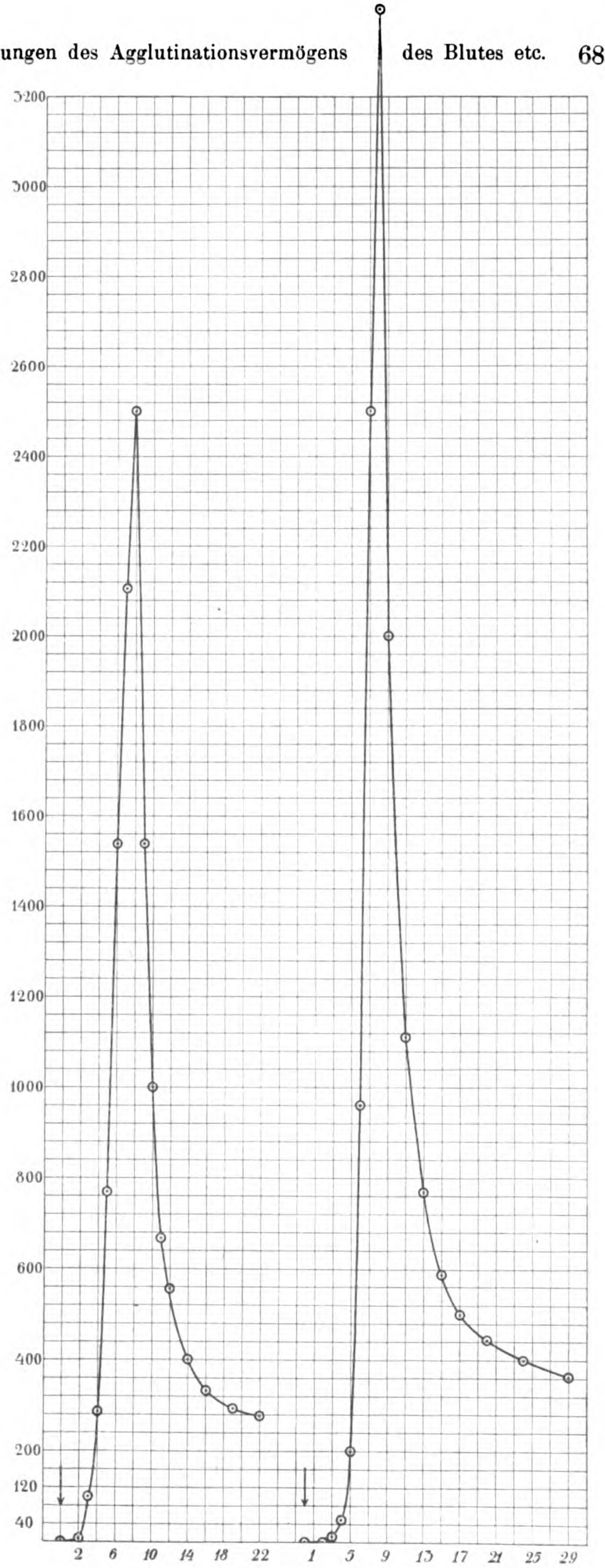


Fig. 3.

Kaninchen. Injektion von 1 ccm 24 Stunden alter Kultur von B. coli. 7 Monate später wiederholte Injektion derselben Dosis Coli-Kultur.

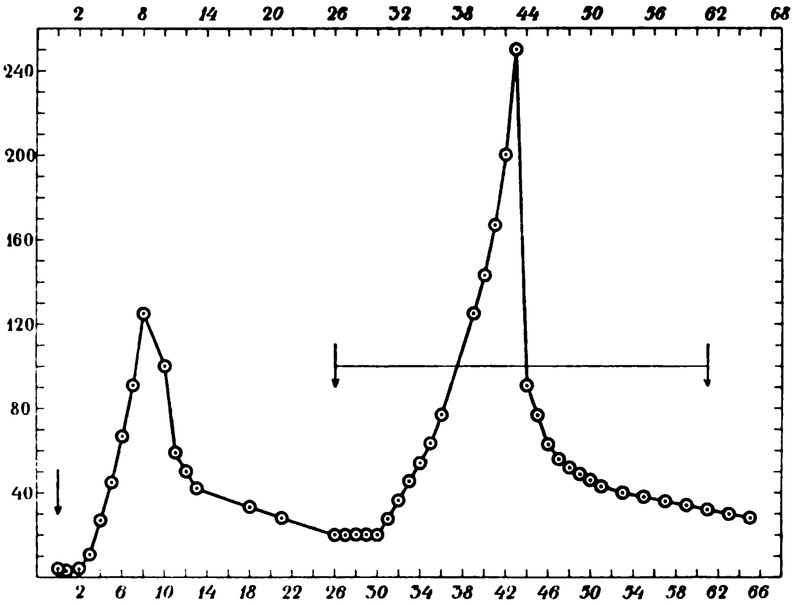


Fig. 4.

Ziege. Injektion von 40 ccm 24 Stunden alter Kultur von V. cholerae. Vom 26. bis zum 61. Versuchstage tägliche Injektion von 5 ccm 24 Stunden alter Kultur von V. cholerae.

Vergleichen wir nun diese für die 3 Mikroben vollständig übereinstimmenden Resultate mit den Angaben früherer Autoren, sowohl was die Agglutinine wie auch andere Antistoffe betrifft, so finden wir denselben Grundtypus der Kurven, der in 3 Phasen zerfällt: 1) eine kürzere oder längere Latenzzeit, 2) ein mehr oder weniger rasches Steigen bis zu einem Maximum und 3) ein Fallen, das hastig beginnt und sich dann gleichmäßiger und gleichmäßiger fortsetzt.

Diese große Uebereinstimmung in der Entwickelung der verschiedenen Antistoffe macht es wahrscheinlich, daß für sie alle dieselben Gesetze gelten und daß man bis zu einem gewissen Grade von dem einen auf den anderen schließen darf. Dann aber ist es natürlich, das Studium mit den Antistoffen zu beginnen, die, wie Agglutinine, Präzipitine und Hämolysine, leicht zugänglich sind und sich in fast unbegrenzter Serie im Reagenzglase messen lassen und dann später auf Basis der erzielten Resultate mit den Antistoffen fortzufahren, mit denen sich schwieriger arbeiten läßt und deren Bestimmung Tierversuche erfordert.

Die Agglutininkurve gleicht von den Kurven der anderen Antistoffe am meisten der von Salomonsen und Madsen gefundenen für das Diphtherieantitoxin. Hier wie dort fällt die größte Konzentration in der Regel auf den 9.—12. Tag, am häufigsten auf den 9., und nur in ganz vereinzelten Fällen wurde das Maximum schon am 7. oder so spät wie am 13.—15. Tage nach einer einzelnen Injektion beobachtet. Das Fallen, das bei immunisierten Tieren unmittelbar nach der Injektion beobachtet wird und das in der Regel für das Diphtherieantitoxin sehr bedeutend ist, ist in der Agglutininkurve nicht sehr ausgesprochen und hat sich in einzelnen Fällen überhaupt nicht nachweisen lassen.

Die 1. Phase, die Latenzzeit, dauerte gewöhnlich 2—3 Tage. v. Dungern[1]) will in seinen Untersuchungen über Präzipitinentwickelung bei Kaninchen bemerkt haben, daß wiederholte Injektionen die Latenzzeit verkürzten, selbst wenn das Präzipitin nach der ersten Dosierung vollständig aus dem Blute verschwunden war, und diese Annahme wurde später von v. Pirquet[1]) bestätigt.

---

[1]) v. Dungern, l. c.

Etwas ähnliches habe ich in meinen Versuchen mit Agglutininen nicht beobachtet.

Die 2. Phase, die Steigerung, verläuft in der Regel jäh, und da die 3. Phase, das Fallen, meistens ebenso jäh beginnt, erscheinen die Kurven — in dem Maßstabe, in dem sie hier dargestellt sind — in einer mehr oder weniger spitzwinkeligen Form.

Dieses anfängliche Fallen kann bisweilen sehr bedeutend sein, so fiel in einem einzelnen Versuche die Agglutininmenge per Kubikcentimeter Serum im Laufe von 24 Stunden von 6667 auf 1667.

Ab und zu kann das Fallen doch auch schon von Anfang an langsam sein, wie auch die Steigerung bisweilen nur geringfügig ist von Tag zu Tag. Diese Verhältnisse können gleichzeitig eintreten und wir treffen dann niedrige Kurven, bei denen der Uebergang von der 2. in die 3. Phase ganz gleichmäßig und abgerundet erscheint.

Salomonsen und Madsen beobachteten bei der Immunisierung von Pferden mit Diphtherietoxin, daß die wiederholte Injektion derselben Toxindosis in dasselbe Tier immer niedrigere Antitoxinschwingungen hervorrief. Dasselbe gilt auch für Agglutinine, und der Zeitpunkt, an dem die Schwächung der Schwingungen beginnt, ist bei den verschiedenen Tieren höchst verschieden, selbst wenn die Behandlung die gleiche war. Diese Verschiedenheit der Reaktion bei vollständig gleich behandelten, gleichartigen Tieren beruht auf individuellen Eigentümlichkeiten der Tiere, verschiedenartigen Anlagen, deren Bestehen ja jetzt eine wohlbekannte Sache ist und die besonders bei der Herstellung von diphtherieantitoxischem Serum eine große praktische Rolle spielen.

Wie bedeutend diese Verschiedenheiten sein können, geht deutlich aus den Kurven in Fig. 5 hervor.

Es handelt sich hier um 3 Kaninchen desselben Wurfes und von fast gleichem Gewichte. Die Tiere hatten unter ganz gleichen Verhältnissen gelebt und waren gleichzeitig und in genau der gleichen Weise gegen B. typh. immunisiert worden. 5 Wochen nach der 1. Injektion hatte das Serum von Kaninchen No. I eine Agglutinationsstärke von 154, von No. II 40 und von No. III 8. Genau 1 ccm derselben 24-stündigen Typhusbouillonkultur wurde den Tieren zu gleicher Zeit intraperitoneal eingespritzt und die Messung sämtlicher in der folgenden Zeit von den 3 Kaninchen genommenen Serumproben wurde beim Abschluß des Versuches an demselben Tage und in derselben Kultur ausgeführt. Das Maximum tritt für alle 3 Tiere ungefähr an demselben Tage (9.—11.) ein, aber die Konzentration nach der 1. Injektion ist sehr verschieden. Die höchsten Werte waren für Kaninchen No. I 500, für No. II 1820 und für No. III 30 und ich bemerke, daß die größte Konzentration nicht bei dem Tiere eintrat, das vor der Injektion die relativ größte Menge Agglutinin aufwies.

Ferner läßt sich eine sehr verschiedene Reaktion der Kaninchen II und III bei wiederholten Injektionen feststellen, indem Kaninchen II nach der 2. Injektion von Kultur (2 ccm) einen bedeutend niedrigeren

---

1) v. Pirquet und Schick, Zur Theorie der Inkubationszeit. (Wiener klin. Wochenschr. 1903.)

Ausschlag gab als nach der 1. (1 ccm), während die Ausschläge bei Kaninchen III nach jeder der 3 folgenden Injektionen größer wurden.

Ist es aber möglich bei diesen 3 Tieren, die so gleichartig waren, wie sie überhaupt zu beschaffen sind, so verschiedene Reaktionen zu erhalten in Bezug auf Kraft und Ausschlag in verschiedenen Richtungen, so lehrt uns das, wie vorsichtig man sein muß in seinen Schlußfolgerungen über den Einfluß, den die injizierte Kulturmenge auf die Konzentration ausübt. Im großen und ganzen gewinnt man indessen doch den Eindruck, daß unter den gleichen Umständen die größere Dosis größere Ausschläge gibt.

Bei der bisher angewandten Arbeitsweise wird dem Organismus eine gewisse Menge Kultur auf einmal zugeführt. Bei einer Typhusinfektion (Fbr. typh.) empfängt der Organismus indessen seinen Giftstoff nicht auf einmal in einer einzelnen größeren Dosis, sondern man muß sich vorstellen, daß es sich hier um ganz kleine Dosen Toxin handelt, die der Organismus aufnimmt, solange die Infektion andauert.

Um daher den wirklichen Verhältnissen einer Typhusinfektion so nahe wie möglich zu kommen, wurden Tiere (2 Ziegen und ein Kaninchen) während einer längeren

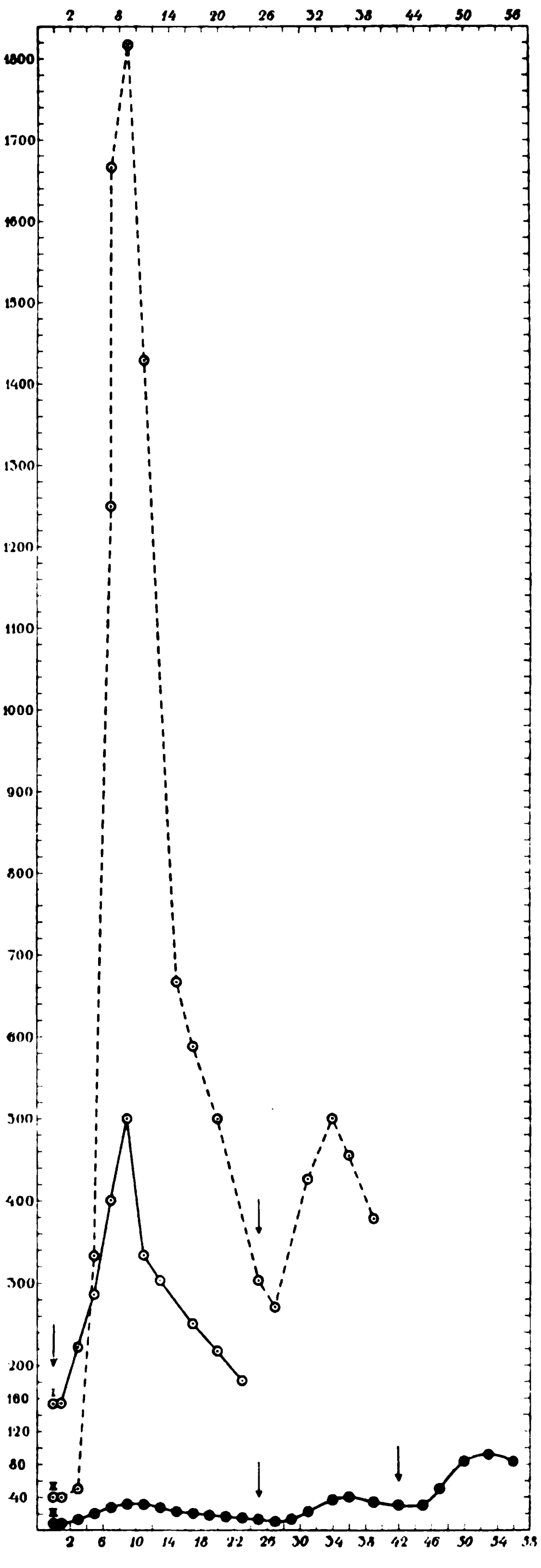


Fig. 5.

Kaninchen I, II, III. Injektion von 1 ccm 24 Stunden alter Kultur von B. typh. Am 25. Versuchstage wurden in II 2 ccm und in III 1 ccm von derselben 48 Stunden alten Kultur von B. typh., und am 42. Versuchstage wieder in III 1 ccm 48 Stunden alter Kultur injiziert.

Periode mit täglichen Einspritzungen derselben kleinen Dosis Kultur behandelt.

Fig. 4, 6 und 7 zeigen die Schwingungen während einer solchen fortgesetzten Reihe von Einspritzungen.

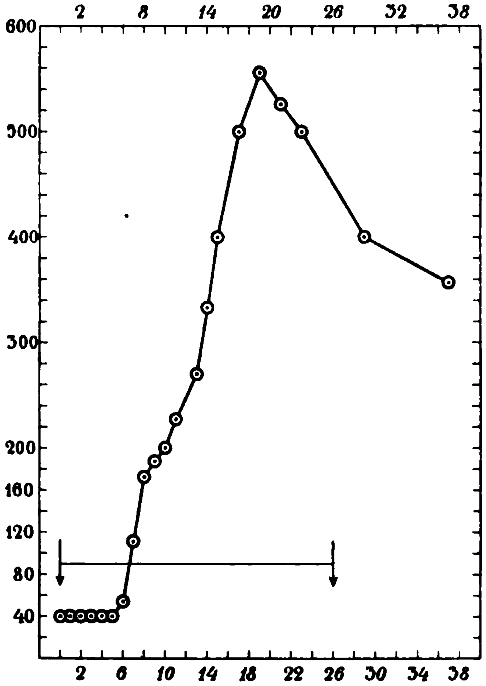


Fig. 6.

Ziege. Bis zum 26. Versuchstage täglich Injektion von 5 ccm 24 Stunden alter Kultur von B. typh.

Das erste Experiment dieser Art wurde mit einer Ziege gemacht, die über 2 Jahre lang mit Kulturen von B. typh. immunisiert gewesen war. Zu Anfang des Versuches zeigte das Serum eine Konzentration von 40. Vom 8. Dezember bis 31. Dezember 1900 wurden täglich 5 ccm 24-stündiger Typhuskultur eingespritzt, im ganzen 120 ccm, ohne merkbaren Einfluß auf das Wohlbefinden der Ziege. Während der ersten 5 Tage hielt sich die Konzentration unverändert, stieg dann aber recht schnell bis zum Maximum 555 am 19. Tage nach der 1. Injektion. Dann folgte ein recht jähes Fallen, obgleich noch 4 Tage lang mit den Injektionen fortgefahren wurde.

Fig. 4 (2. Kurve) zeigt ein ganz analoges Experiment mit V. cholerae. Wir beobachteten hier vollständig entsprechende Resultate. Das Fallen tritt während der Injektionen ein und dauert an, trotzdem dieselben 18 Tage, nachdem das Maximum erreicht wurde, fortgesetzt wurden.

Der 3. Versuch wurde an einem Kaninchen gemacht, das im Gegensatz zu den beiden Ziegen nicht vorher behandelt worden war. Die Agglutininkurve zeigt das gleiche eigentümliche plötzliche Fallen, lange bevor die tägliche Toxineinspritzung aufhört, und unterscheidet sich von den beiden anderen Kurven nur durch eine etwas längere erste und zweite Phase.

Der Umstand, den wir hier beobachtet haben, daß nämlich mitten unter einer täglichen Zuführung von Toxin eine plötzliche und lange andauernde Schwächung der antitoxinbildenden Fähigkeit des Organismus eintreten kann, ist nicht allein von großem immunitätstheoretischen Interesse, sondern möglicherweise auch von Bedeutung in praktischer Beziehung.

An den Seruminstituten wird jetzt nämlich allgemein zur Herstellung von diphtherieantitoxischem Serum eine Immunisierungsmethode angewandt, die der hier geschilderten sehr ähnlich ist; man spritzt das Diphtheriegift jeden 3. Tag ein. Es lag deshalb nahe, die Verhältnisse der Agglutininkurve zu untersuchen, wo diese Methode benutzt wurde.

Zum Versuche wurde ein ganz frisches Kaninchen benutzt, in dessen Peritonealhöhle an jedem 3. Tage 1 ccm derselben gekochten, 24-stündigen Typhuskultur eingespritzt wurde.

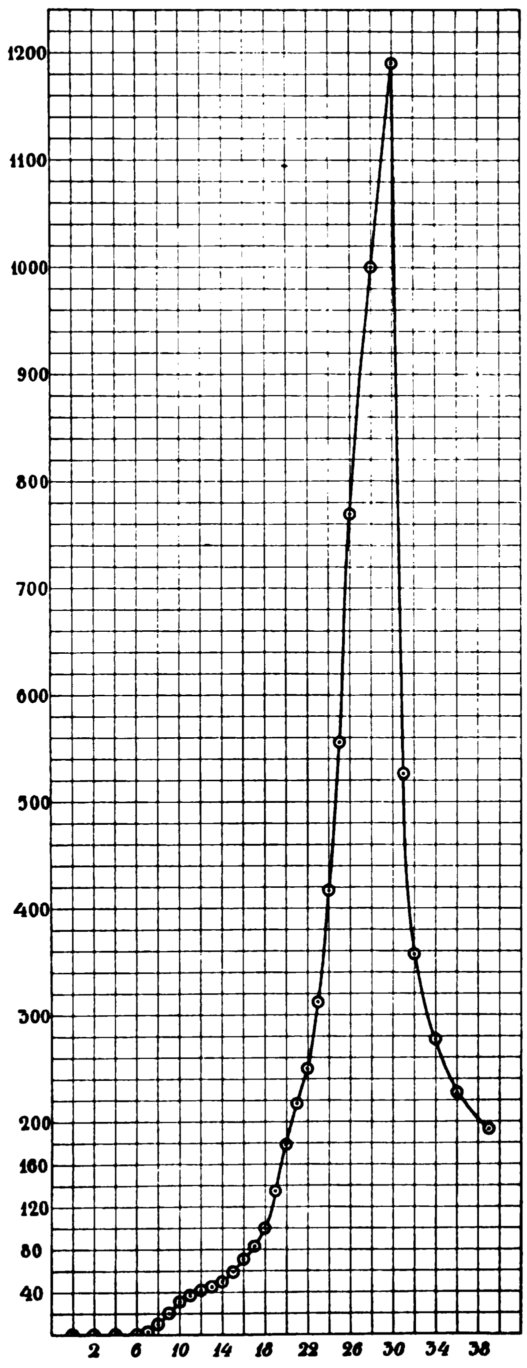


Fig. 7.

Kaninchen. Täglich (40 Tage) Injektion von 1 ccm derselben 24 Stunden alten Kultur von B. typh. (bis 115° C erwärmt).

Das Ergebnis, s. Fig. 8a, wurde nicht, wie man erwartet hatte, ein einzelnes, langes, fortgesetztes Steigen bis zum endlichen Fallen, sondern eine Reihe einander folgender Ausschläge von immer größerer Konzentration bis zu einem Maximum, und darauf wieder ein Abnehmen in einer ähnlichen Wellenlinie, wie die, in der das Steigen vor sich ging, nur in umgekehrter Ordnung.

Während der erste Ausschlag sein Maximum am 8. Tage der ersten Einspritzung erreichte, ist der zweite Ausschlag bedeutend länger und erreicht eine Konzentration, die mehr als sechsmal so groß ist. Die folgenden Schwingungen sind, bis das Maximum der ganzen Kurve erreicht ist, relativ immer niedriger.

Ein anderes, gleichfalls ganz frisches Kaninchen ergab, in der gleichen Weise behandelt, ganz entsprechende Resultate. Fig. 8b zeigt den ersten Ausschlag und den Beginn des zweiten.

Betrachten wir uns diese Kurven genauer, so bemerken wir, daß jeder einzelne Ausschlag im höchsten Grade der Kurve nach einer einzelnen Injektion gleicht. Für die erste Kurve ist dies unmittelbar einleuchtend, und was die übrigen betrifft, so sehen wir, daß 2 Tage nachdem das Tier eine Kulturdosis bekommen hat, das Steigen beginnt und darauf ein zunehmendes Fallen folgt. Das Steigen geht schnell vor sich, das Maximum hält sich innerhalb der bei Einzelinjektionen beobachteten Grenzen (am bezw. 15., 8., 12., 9. und 8. Tage) und auch das Fallen zeigt keinerlei Abweichung.

Es ist also nicht unmöglich, daß eben diese Kulturdosis die einzelne Schwingung verursacht und daß die dazwischenliegenden Dosen nur von untergeordnetem Einfluß auf die Form der Kurve sind.

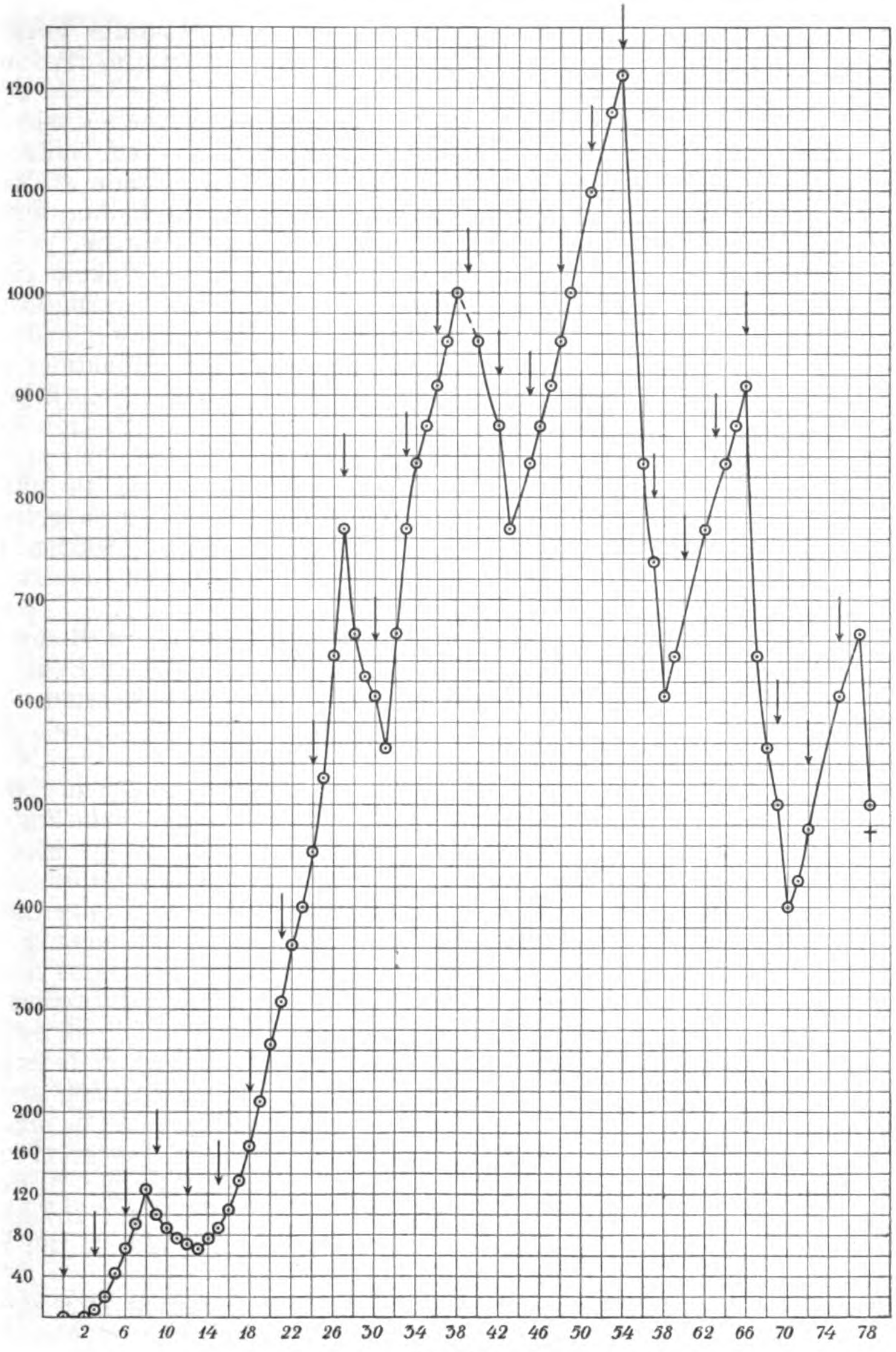


Fig. 8a.

Kaninchen. Injektion — ↓ — jeden 3. Tag von 1 ccm derselben 24 Stunden alten Kultur von B. typh. (bis 115° C erwärmt).

Fortgesetzte Versuche mit Injektionen an jedem 6., jedem 9. etc. Tage dürften diese Verhältnisse eingehender klarlegen, Verhältnisse, die verschiedene Winke zu geben scheinen über das, was während der Immunisierung vorgeht, und die außerdem vielleicht praktische Bedeutung haben.

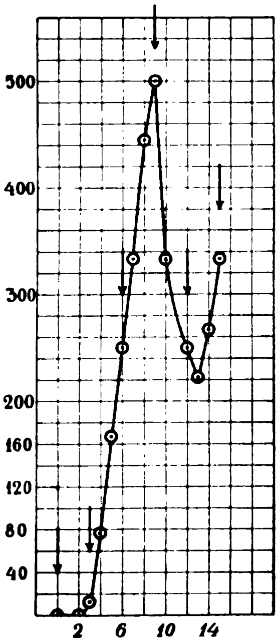


Fig. 8b.

Trifft inzwischen die obengenannte Voraussetzung zu, so scheint die Agglutininkurve nur in geringem Grade von einer am 3.—9. Tage — also in der 2. Phase der Kurve — wiederholten Dosis derselben Kultur beeinflußt zu werden, während die gleiche Dosis am 12. Tage — also in der 3. Phase — das Fallen unterbricht und ein neues Steigen entwickelt.

Mit anderen Worten, die Fähigkeit eines Organismus, nach einer Kulturdosis Agglutinin zu entwickeln, wird bedeutend geschwächt durch die 3—9 Tage vorher erfolgte Injektion der gleichen Kultur, während eine solche Schwächung nicht eintrat, wenn die Injektion 12 Tage vorher stattfand.

Es hat dann seine Bedeutung, zu untersuchen, ob ein ähnlicher Einfluß sich geltend macht, wenn man bei der ersten Injektion die Kultur einer anderen Mikrobenform benutzt als bei der zweiten.

Zu Versuchen dieser Art habe ich B. typh. und B. coli in gekochten 24-stündigen Bouillonkulturen und in Dosen von 1 ccm benutzt.

Die ersten Versuche wurden an zwei früher nicht behandelten Kaninchen A und B gemacht.

Am 23. Oktober 1902 erhielt A 1 ccm Typhus- und B 1 ccm Coli-Kultur und 3 Tage später A 1 ccm Coli- und B 1 ccm Typhuskultur.

Die Messung der täglichen Serumproben zeigt dann (siehe Fig. 9), daß jede der Injektionen die für sie charakteristische Agglutininkurve hervorbringt, deren Form genau der Kurve entspricht, die man erwarten darf, wenn es sich um diese einzelne Injektion handelt. Dagegen beobachten wir auf der Höhe der beiden Kurven desselben Tieres einen bedeutenden Unterschied: der Ausschlag nach der zweiten Injektion ist niedriger als der Ausschlag nach der ersten. Besonders auffallend ist es, daß bei Kaninchen B der Agglutinationswert des Serums für B. typh. (2. Injektion) 50 erreicht, während der für B. coli bis zu 2500 steigt.

Dasselbe Resultat gibt eine Injektion in Kaninchen A in umgekehrter Reihenfolge und mit einem Zwischenraum von 5 Tagen. Trotzdem der Agglutinationswert des Serums am Injektionstage für B. coli auf 25 gesunken war, während er sich für B. typh. noch auf 137 hielt, erreicht die Konzentration von B. typh. nur ca. $^1/_8$ des Wertes der von B. coli.

Selbst wenn wir nun mögliche individuelle Verschiedenheiten in der Reaktion des Tieres den beiden verschiedenen Mikroben gegenüber mit in Betracht ziehen, geben diese einleitenden Versuche doch gewisse Anhaltspunkte für die Vermutung, daß zwischen der niedrigen Agglutininkurve nach der zweiten Injektion und der vorhergehenden ersten Injektion ein ursächliches Verhältnis besteht.

Das Experiment wird deshalb an zwei frischen Kaninchen wiederholt. Die Injektionen werden mit einem Zwischenraum von 4 Tagen gegeben, sonst ist die Anordnung dieselbe. Kaninchen C erhält in der ersten Einspritzung Typhuskultur, Kaninchen D Coli-Kultur und umgekehrt in der zweiten.

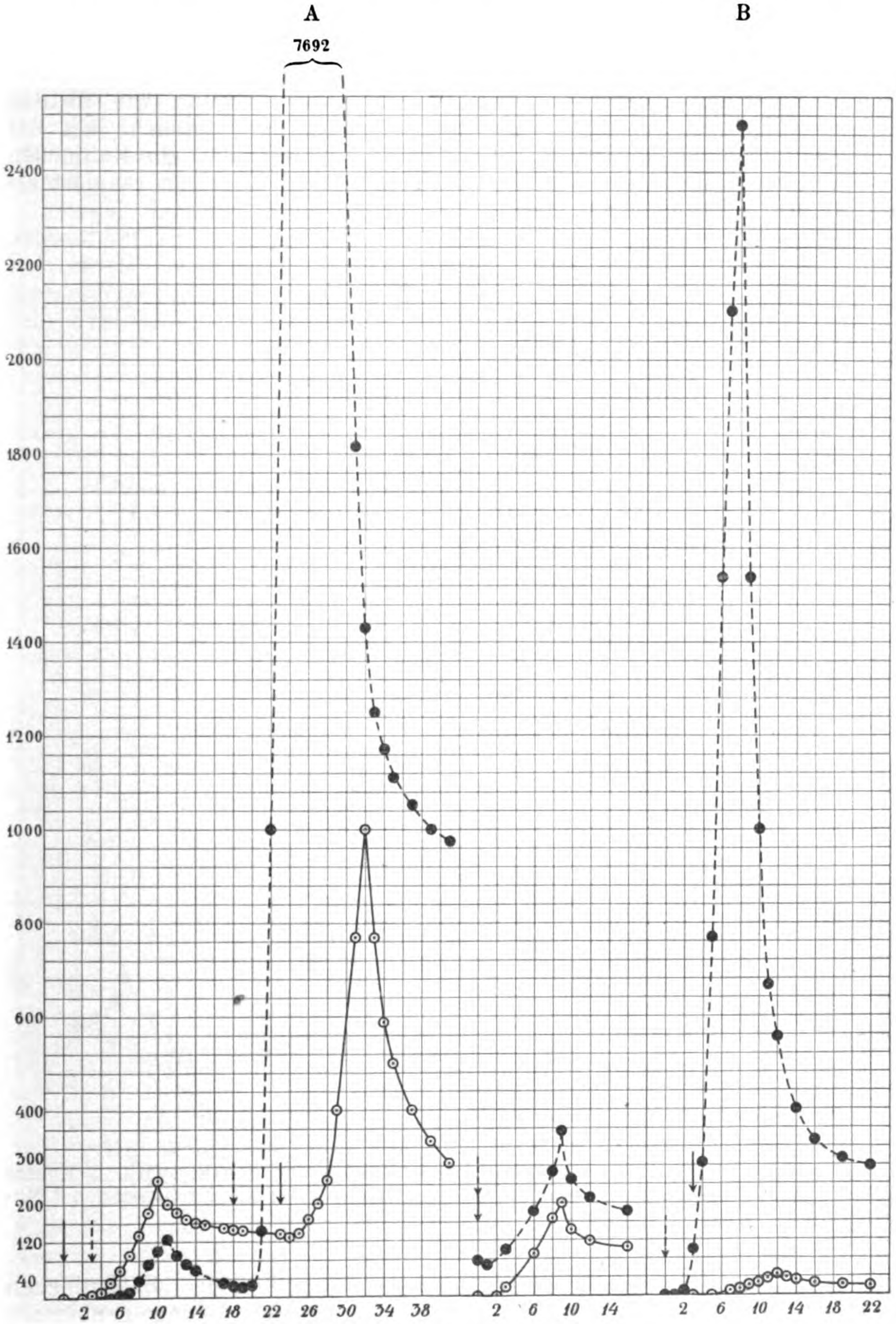


Fig. 9.

Kaninchen A. Injektion von B. typh. und 3 Tage später von B. coli. Am 18. Versuchstage wieder Injektion von B. coli und 3 Tage später von B. typh. Ca. 11 Monate später gleichzeitige Injektion von B. typh. und B. coli.

Kaninchen B. Injektion von B. coli und 3 Tage später von B. typh.

In dieser und in den folgenden Figuren bezeichnet –○–○–○-- die Agglutininkurve, –●–●–●– die Coli-Agglutininkurve.

Die Messung in diesen sowie in den vorigen Versuchen ist in den gleichen vorher zubereiteten Kulturen ausgeführt worden.

Die graphische Darstellung der Resultate (Fig. 10) zeigt denselben relativ niedrigen Ausschlag nach der zweiten Injektion wie in den früheren Kurven, am stärksten für B. typh., was vielleicht mit der wiederholt gemachten Beobachtung zusammenhängt, daß ein Kaninchen meistens auf Injektionen von B. coli bedeutend kräftiger reagiert als auf B. typh. — nach den hier benutzten Maßen.

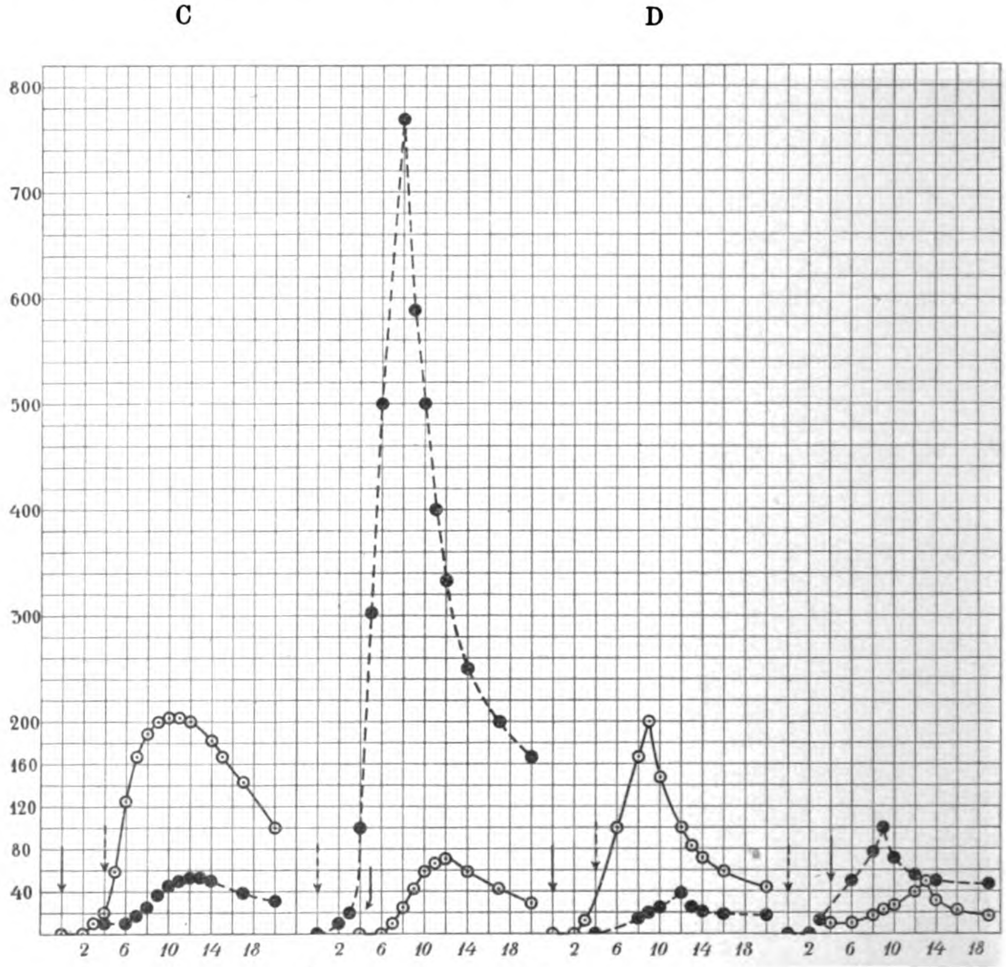


Fig. 10.

Kaninchen C. Injektion von B. typh. und 4 Tage später von B. coli.

Kaninchen D. Injektion von B. coli und 4 Tage später von B. typh. 7 Monate später Injektion von B. typh. und 4 Tage danach von B. coli. Nach weiteren 2 Monaten Injektion von B. coli und 4 Tage später von B. typh.

Hier war also Anlaß, diese Versuche auszudehnen. 8 Kaninchen von gleichem Gewicht wurden gleichzeitig in Behandlung genommen und zu allen Injektionen wurde die gleiche 24-stündige gekochte Kultur benutzt.

Unter diesen 8 Tieren waren die früher behandelten Kaninchen C und D, in deren Serum sich zu Anfang des Versuches kein Agglutinin vom vorigen Versuche nachweisen ließ. An diesen werden die Injektionen mit Zwischenräumen von 4 Tagen, aber in umgekehrter Reihenfolge, wiederholt.

(3 Tage nach der letzten Einspritzung starb Kaninchen C an Peritonitis.)

Die 6 anderen Kaninchen waren früher nicht behandelt worden. Von diesen bekommen E und F 1 ccm Typhuskultur und unmittelbar nachher 1 ccm Coli-Kultur.

Zwei weitere Kaninchen G und H bekommen die beiden Injektionen mit einem Zwischenraum von 9 und die beiden letzten I und K mit einem Zwischenraum von 13 Tagen, und zwar so, daß G und I in der ersten Injektion Typhus-, H und K Coli-Kultur bekommen.

Fig. 10—13 zeigen die Resultate.

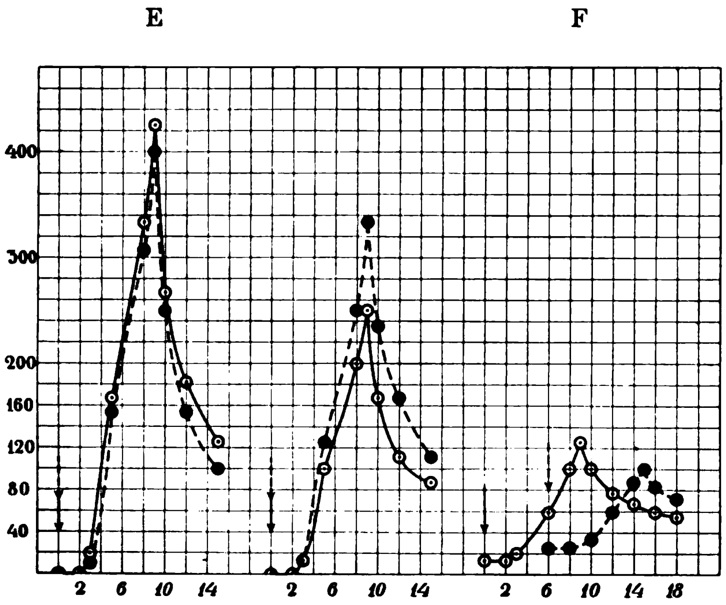


Fig. 11.

Kaninchen E und F. Gleichzeitige Injektion von B. typh. und B. coli.
Kaninchen F. 9 Monate später Injektion von B. typh. und 6 Tage danach von B. coli.

Wie bei den früheren Versuchen gibt jede Injektion Ausschläge von typischer Form. Bei den Kaninchen E und F, denen die Injektionen unmittelbar hintereinander gegeben worden waren, erreichte die Konzentration in den beiden Agglutininkurven ungefähr die gleiche Höhe und dasselbe war der Fall bei Tieren, denen die Injektionen in einem Zwischenraum von 13 Tagen gegeben worden waren.

An den Kurven der 3 übrigen Kaninchen D, G und H, also wo die Kulturen in Zwischenräumen von 4 und 9 Tagen eingespritzt worden waren, begegnen wir von neuem demselben niedrigen Ausschlage nach der zweiten Injektion, den wir früher beobchtet haben.

Um das Material zur Beleuchtung dieser Verhältnisse noch zu vermehren, habe ich die Versuche an Kaninchen D, G und K wiederholt mit den Injektionen in umgekehrter Ordnung, aber mit demselben Zwischenraum. In Kaninchen A wurden die beiden Kulturdosen unmittelbar nacheinander injiziert, und in F Dosen von Coli-Kultur 6 Tage nach der Injektion von Typhuskultur eingespritzt.

Alle 5 Experimente gaben Resultate analog mit den früher gefundenen.

Es ließe sich indessen denken, daß eine Vergrößerung der sekundären Kulturdosis das Verhältnis zwischen den beiden Ausschlägen verändern würde.

Daß etwas ähnliches nicht der Fall ist, scheint aus den in Fig. 14 (L und M) wiedergegebenen 3 Versuchen (2 an demselben Kaninchen), in denen die zweite Kulturdosis auf 5 ccm vergrößert wurde, hervorzugehen.

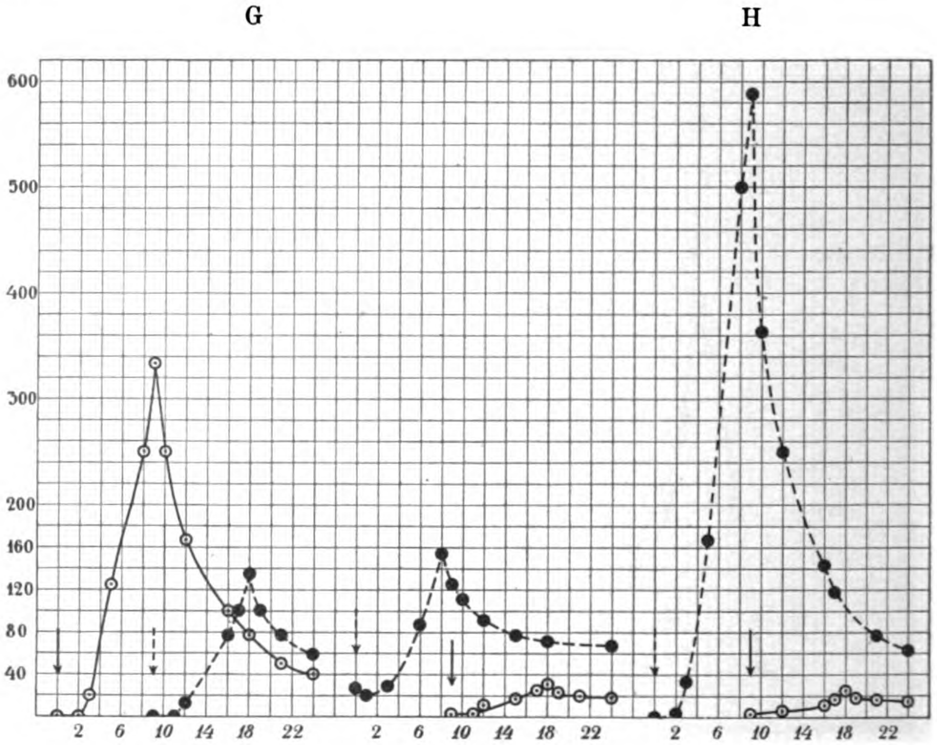


Fig. 12.

Kaninchen G. Injektion von B. typh. und 9 Tage später von B. coli. 3 Monate danach Injektion von B. coli und 9 Tage später von B. typh.

Kaninchen H. Injektion von B. coli und 9 Tage später von B. typh.

Zu sicheren Schlußfolgerungen berechtigen diese Versuche indessen kaum, dazu ist ihre Anzahl zu gering und die Experimente müßten am besten an denselben bedeutend variiert werden. Ferner sollten die Versuche auch auf Kulturen anderer Mikrobenformen und möglicherweise auch Gifte anderer Art ausgedehnt werden. Außerdem ermahnen unsere Erfahrungen über die individuellen Eigenschaften uns zur Vorsicht in Bezug auf Folgerungen aus der Höhe der Ausschläge.

Auf der anderen Seite ist doch zu bemerken, daß die Kurven alle in derselben gekochten Kultur und gleichzeitig für denselben Versuch bestimmt wurden und also einen absoluten Vergleich gestatten. Außerdem hat das gefundene Verhältnis sich in den recht zahlreichen Versuchen so konstant wiederholt, daß man schwer an einen bloßen Zufall glauben kann.

Man muß deshalb mit unseren bisherigen Erfahrungen berechtigt sein, anzunehmen, daß, wenn man in der 2. Phase — also am 3. bis

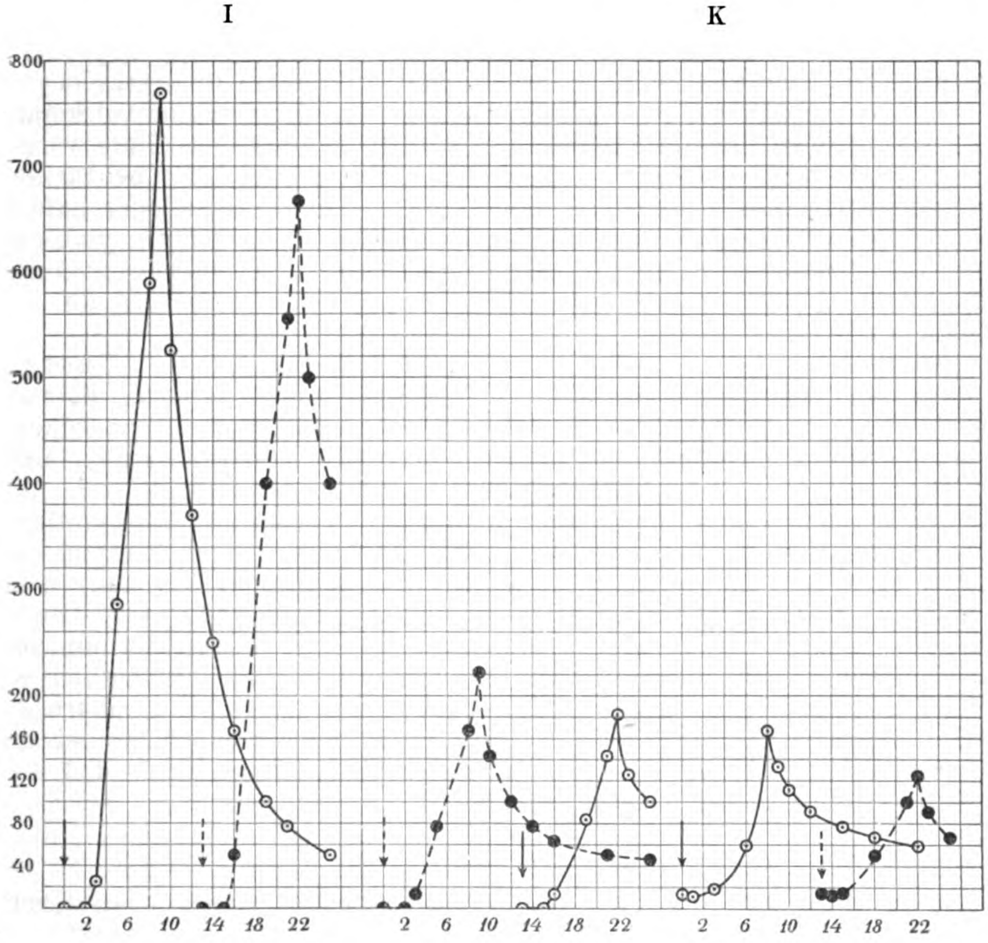


Fig. 13.

Kaninchen I. Injektion von B. typh. und 13 Tage später von B. coli.

Kaninchen K. Injektion von B. coli und 13 Tage später von B. typh. 3 Monate danach Injektion von B. typh. und 13 Tage später von B. coli.

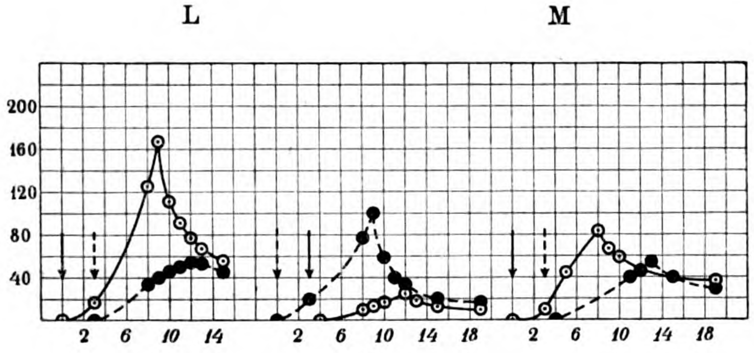


Fig. 14.

Kaninchen L. Injektion von B. typh. (1 ccm) und 3 Tage später von B. coli (5 ccm).

Kaninchen M. Injektion von B. coli (1 ccm) und 3 Tage später von B. typh. (5 ccm). 3 Monate danach Injektion von B. typh. (1 ccm) und 3 Tage später von B. coli (5 ccm).

9. Tage — der Agglutininkurve nach einer Kulturinjektion eine neue Injektion desselben oder eines anderen Mikroben gibt, die Agglutininentwickelung nach der letzteren relativ gering bleibt.

Es sind früher Untersuchungen über die Agglutininentwickelung nach Injektionen von verschiedenen Mikroben in dieselben Tiere vorgenommen worden. So hatte Sidney Wolf[1]) schon 1899 beobachtet, daß das Serum des betreffenden Tieres nach gleichzeitigen oder aufeinander folgenden Injektionen von B. typh., B. coli und Pyocyaneus allen drei Mikroben gegenüber Agglutinationsfähigkeit bekam, und dieselbe Beobachtung machte später Buxton[2]) bei Versuchen mit den beiden ersten Mikroben.

Die größten und besten Untersuchungen dieser Art teilt Castellani[3]) mit, der zu den Injektionen Kulturen von B. typh., B. coli und B. pseudodysent. und wesentlich dieselbe Versuchsanordnung anwendet wie ich, indem er nämlich die zweite Injektion am 3. oder 10. Tage nach der ersten oder gleichzeitig mit dieser gibt.

Nach allen seinen Injektionen erhält er die spezifische Agglutininkurve, aber ein quantitativer Vergleich zwischen diesen Kurven läßt sich infolge der angewandten Technik (mikroskopische Messung) nicht anstellen. Außerdem hat er, wie er selbst hervorhebt, stets frische Kulturen benutzt, d. h. stets neue Kultur zu jeder neuen Serumprobe.

Im Kapitel über die Technik habe ich die große Bedeutung erwähnt, die die Anwendung verschiedener Kulturen auf die makroskopische Messung hat, und diese Bedeutung ist noch viel größer bei der mikroskopischen Methode. Es kann daher nicht überraschen, daß Castellanis Resultate so inkonstant sind.

Schluß.

Betrachten wir nun die bei den Tierversuchen gewonnenen Resultate, die ihren Ausdruck in den oben beschriebenen Kurven finden, so beobachten wir für alle drei Phasen: 1) die Zeit vor der Steigerung, 2) die Steigerung und 3) das Fallen.

Die erste Phase dauerte nach einer Einzelinjektion stets 2—3 Tage, eine Beobachtung, die gut übereinstimmt mit der von Pfeiffer und Marx[4]) ausgesprochenen Vermutung, daß Agglutinin sich außerhalb des Kreislaufes — ihrer Meinung nach wesentlich in der Milz — bildet und erst nach 2—3 Tagen im Blute zur Zirkulation kommt. Dieser Vermutung stimmen v. Emden[5]) und Jatta[6]) zu, während sie von Deutsch[7]), Castellani[8]) und Rath[9]) stark bestritten wird.

Bei täglich wiederholter Einspritzung — sogar wo die gleiche Dosis wie bei den Einzelinjektionen benutzt wird — finden wir die erste Phase über 4—6 Tage ausgedehnt.

---

[1]) Wolf, Beiträge zur Lehre der Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteus-Gruppe und auf die Mischinfektionen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.)

[2]) Buxton, A comparative study of the bacilli intermediate between B. coli com. and B. typh. (Journ. of med. research. Vol. VIII. 1902.)

[3]) Castellani, Die Agglutination bei gemischter Infektion und die Diagnose der letzteren. (Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XL. 1902.)

4—7) l. c.

[8]) Castellani, Ueber das Verhältnis der Agglutinine zu den Schutzkörpern. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.)

[9]) Rath, Ueber den Einfluß der blutbildenden Organe auf die Entstehung der Agglutinine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.)

Bei früher behandelten Tieren, deren Blut noch Agglutinin enthält, beobachten wir unmittelbar nach der Injektion ein Fallen. Dieses Fallen ist bei mehreren Antistoffen (Diphtherie-, Tetanus- und Botulismusantitoxin, sowie bei Hämolysin) recht bedeutend, bei Antilabferment ist es nicht nachgewiesen. Bei den Agglutininen ist es im allgemeinen nur schwach und in einzelnen Fällen hat es sich nicht nachweisen lassen.

Am Schlusse der ersten Phase beginnt die Agglutininkonzentration zu steigen, erst langsam, dann schneller und schließlich wieder etwas langsamer, kurz vor Acme, die meistens am 9. Tage eintritt.

Die dritte Phase, das Fallen, beginnt in den meisten Fällen recht plötzlich und ist im Anfange am stärksten, nimmt aber dann gleichmäßiger — und kontinuierlich, solange man ihm folgen kann, ab.

Sowohl von der zweiten als von der dritten Phase finden Abweichungen statt: das Abnehmen des Steigens gegen das Maximum hin kann stärker ausgesprochen oder das Fallen schon von Anfang an langsam sein. Finden beide Abweichungen gleichzeitig statt, so erscheint die Kurve stark abgerundet.

Das Fallen in der dritten Phase bei der aktiven Immunisierung gleicht auffallend dem Fallen bei der passiven, die von Jörgensen und Madsen[1]) gemessen und graphisch dargestellt worden ist, und es ist auch höchst wahrscheinlich, daß es sich in beiden Fällen um wesentlich denselben Prozeß handelt, um so mehr, als Madsen[2]) nachgewiesen hat, daß beide Kurven durch dieselbe Formel ausgedrückt werden können.

Das Verschwinden des Antistoffes aus dem Blute kann nach Salomonsen und Madsen[3]), die diese Frage früher diskutiert haben, nicht auf direkter Absonderung durch die Sekrete beruhen. Teils sind die in den Sekreten (Milch, Urin, Speichel u. s. w.) nachweisbaren Mengen zu gering im Verhältnis zu der bedeutenden Verminderung im Blute und teils spricht der genaue Parallelismus zwischen der antitoxischen Kraft der Milch und des Blutes (Ehrlich, Salomonsen und Madsen) absolut gegen eine solche Ausscheidung. Wenn die Ausscheidung durch die Sekrete wirklich eine Rolle spielte, müßte man nämlich annehmen, daß der Antistoff im Sekret steigt, während er gleichzeitig im Blut abnimmt.

Für das Verschwinden des Antistoffes muß also eine andere Weise zu finden sein: eine Umsetzung oder irgend eine Bindung, die bewirkt, daß die antitoxische Eigenschaft nicht mehr zu erkennen ist.

Bei der passiven Immunisierung verschwindet der eingeführte Antistoff nach und nach aus dem Blute, erst schnell, später langsamer, abhängig von Konzentration und Zeit. Bei der aktiven Immunisierung kann das Verhältnis indessen so einfach nicht sein.

Die Kurve weicht hier oft von der Form ab, die wir für das Fallen bei der passiven Immunisierung kennen gelernt haben. Wir beobachten häufig, daß die Agglutininabnahme nicht plötzlich, sondern gleichmäßig und langsam beginnt, und in der Regel ist die Kurve der dritten Phase bedeutend länger als die bei der passiven Immunisierung.

Eine, wie es scheint, befriedigende Erklärung gibt die von Salomonsen und Madsen aufgestellte Hypothese, daß in dem aktiv immunisierten Organismus jederzeit eine Produktion und Destruktion antitoxischen Stoffes vor sich geht. Ein stärkeres oder mäßigeres Abnehmen in der Produktion resultiert dann in einem stärkeren oder langsameren Fallen der Antitoxinkurve, was vielleicht auf individuellen Eigentümlichkeiten der Tiere beruht.

---

[1]) l. c.

[2]) Madsen, Th., The decrease of antibodies in the organism indicated by a formula. (Festskrift ved Indvielsen af Statens Seruminstitut. 1902.)

[3]) Salomonsen og Madsen, Om Forskelligheder i Serums antidifteriske Styrke hos aktivt immuniserede Heste. (Nordisk med. Arkiv. 1897.)

Durch die Annahme dieser Doppelwirksamkeit im Organismus werden auch die Verhältnisse in anderen Phasen und die ganze Schwingung überhaupt leichter verständlich. Wollen wir uns deshalb klar machen, was nach einer Injektion von Toxin im Organismus vor sich geht, so können wir uns folgendes denken:

Nach 2—3 Tagen zeigt das Agglutinin sich im Blute. Hat die Produktion schon früher begonnen, so ist sie jedenfalls noch nicht in den Kreislauf gelangt. Hierauf könnte die früher erwähnte Beobachtung von Pfeiffer und Marx deuten, wonach in den ersten Tagen nach der Injektion von Cholerakultur (in Meerschweinchen) der Milzextrakt eine schützende und agglutinierende Fähigkeit zeigte, während sich gleichzeitig eine solche im Blute nicht nachweisen ließ.

In der zweiten Phase nimmt die Produktion zu, anfangs langsam, dann schneller und ist in der Regel am stärksten um den 6. Tag, was sich durch einen bedeutenden Abstand zwischen den Werten kundgibt. Darauf nimmt sie wieder ab gegen das Maximum der Kurve hin, ca. am 9. Tage.

Während des Steigens geht gleichzeitig eine Umsetzung vor sich, die aber im Verhältnis zur Produktion nur gering ist und deshalb nicht ins Auge fällt. Die Produktion ist folglich größer, als sie in der Kurve zum Ausdruck kommt, da das Agglutinin infolge des obengenannten Gesetzes beständig umgesetzt wird. Dieser Doppelprozeß erinnert etwas an den Vorgang, wenn ein Stein in die Höhe geworfen wird; auch hier wirken zwei einander entgegengesetzte Kräfte: die schleudernde Kraft und die Schwerkraft (Madsen).

Zu Ende der zweiten Phase der Agglutininentwickelung — also auf dem Höhepunkt der Kurve — sind Produktion und Umsatz gleichgroß, dann aber tritt eine größere Schwächung der Produktion ein, der Umsatz tritt in den Vordergrund und die Agglutininkonzentration nimmt ab, mit anderen Worten: die dritte Phase der Kurve beginnt. Treten nun keine neuen Impulse hinzu, so nimmt die Produktion beständig ab und der Konzentrationsfall setzt sich kontinuierlich fort, bis der Antistoff vollständig verschwunden ist.

Ganz wie bei der passiven Immunisierung muß der Umsatz des Antistoffes abhängig sein von Konzentration und Zeit. Es tritt beim aktiven Fall der Zeitpunkt ein, wo der Unterschied zwischen Umsatz und Produktion so gering wird, daß er sich nicht messen läßt, und wir stehen dann vor dem sogenannten „antitoxischen Gleichgewicht“, das jedoch wohl nur scheinbar ist.

Wird inzwischen dem Organismus während der dritten Phase eine neue Dosis Toxin zugeführt, so tritt eine kurze Lähmung der Produktion ein und der Umsatz offenbart sich in dem so oft konstatierten plötzlichen Falle unmittelbar nach der Injektion.

Vergleicht man die bei Tierversuchen gewonnenen Agglutininkurven mit den Kurven von Typhuspatienten, so ist ihre große Aehnlichkeit in die Augen fallend, und die Uebereinstimmung zwischen den Phänomenen bei Menschen und bei Tieren ist so groß und so absolut, daß sie dazu berechtigen muß, von den Tierversuchen auf das zu schließen, was bei Menschen vorgeht. Die Aehnlichkeit ist am größten mit den Kurven der Tiere, die mit täglichen Kulturdosen behandelt wurden; das war auch zu erwarten, da ja bei F. typhoidea angenommen werden muß, daß dem Organismus der Giftstoff kontinuierlich zugeführt wird.

Wir finden in den Patientenkurven dieselben drei Phasen wieder. Die erste Phase, die Latenzzeit, ist sehr verschieden, bisweilen bedeutend länger als bei den Tierkurven und in einem einzelnen Falle (XXIX) ließ sich das Agglutinin erst am 25. Krankheitstage im Blute nachweisen. Inzwischen ist es ja außerordentlich schwierig, zu erfahren, wann die Krankheit begann, und unmöglich, anzugeben, wann die Infektion mit Typhusbacillen stattfand, die Angaben über die Latenzzeit müssen deshalb immer sehr mangelhaft bleiben. Beim Vergleiche mit der Latenzzeit bei Tieren darf außerdem nicht übersehen werden, daß sich möglicherweise verschiedene physiologische Verhältnisse geltend machen, wenn die Bakterientoxine durch den Darm oder durch das Peritoneum eingeführt werden und daß dem Organismus wahrscheinlich zu Anfang einer F. typh. nur sehr kleine Giftmengen zugeführt werden. Die beiden anderen Phasen zeigen meistens ein schnelles, mehr oder weniger starkes Steigen und ein plötzliches Fallen, das sich langsamer fortsetzt — Courmonts „Courbe en cloche“.

In mehreren Fällen ist die Kurve nicht steil und hoch, sondern hat eine stumpfwinkelige Form mit langsamem Steigen und Fallen und niedrigerer Konzentration — „Courbe en toit“. Einzelne Kurven nähern sich der abgerundeten Form, in der die zweite und dritte Phase direkt ineinander übergehen.

Wenn wir diese Kurven betrachten, finden wir durchgehends, daß der Agglutinationswert oft recht bedeutend bis zu einem gewissen Punkte steigt, um dann plötzlich wieder zu fallen. Das Maximum fällt meistens in die 3. Woche, wenn die Infektion, nach den klinischen Symptomen zu urteilen, ihren Höhepunkt erreicht hat. Aus dem Umstande, daß die Agglutininmenge sinkt, lassen sich also keine Schlüsse darauf ziehen, daß die Infektion im Abnehmen sei und daß dem Organismus geringere Giftmengen als früher zugeführt werden. Das stimmt auch mit unseren Erfahrungen von den Tierversuchen, bei denen lange Zeit hindurch kleine Kulturmengen injiziert wurden (Fig. 4, 6 und 7). Hier fanden wir ja eben, daß das Agglutinin, wenn es sein Maximum erreicht hatte, fiel, selbst wenn die Injektionen andauerten.

Wir beobachten also dieselben Schwingungsformen wie bei den Tierversuchen, und müssen unzweifelhaft auch hier die verschiedene Reaktion durch verschiedene individuelle Eigentümlichkeiten des Patienten erklären.

Diese Erklärung scheint auch einleuchtend bei der Zusammenstellung der Fälle V und XIII. Zwei Brüder, ungefähr gleich alt (10 und 12 Jahre), erkrankten in einem Zwischenraume von wenigen Tagen und die Krankheit verläuft für beide glatt und ohne Komplikationen. Die Agglutininkurven dieser beiden Knaben, die gleichzeitig und in derselben Kultur gemessen wurden, zeigen nun einen recht bedeutenden Unterschied. Während V eine „Courbe en cloche“ mit Maximum 444 zeigt, ergibt die Schwingung für XIII eher die Form „Courbe en toit“ mit langsamer, etwas abgerundeter zweiter Phase und Maximum 133. Beide Kurven erreichen dies Maximum am 13. Krankheitstage.

Bei Rezidiven wird dem Organismus neues Gift zugeführt und wir erhalten eine neue Schwingung[1], aber ganz wie bei der wiederholten Injektion in Tiere mit Ausschlägen von verschiedener Größe bei den verschiedenen Individuen. So ist in den beiden schweren unkomplizierten Fällen XIX und XX die Rezidivkurve für XIX niedriger als die Hauptkurve, während in Fall XX die Konzentration bei jedem Rezidiv höher steigt. Im ersten Falle trat also schon nach der ersten Schwingung eine Schwächung der agglutininentwickelnden Fähigkeit des Organismus ein, während eine solche sich im Fall XX nicht beobachten ließ (analoge Verhältnisse Tierkurven Fig. 5).

Aehnliche Verhältnisse finden wir bei den mittelschweren Typhusfällen.

Kasel und Mann[1]) schließen aus ihren Beobachtungen, daß die Reaktion bei Kindern in den ersten 7 Lebensjahren schwächer ist als bei Erwachsenen. Das bestätigt sich hier nicht, die Konzentration stieg bei einem Kinde von 6 Jahren (VI) bis zu 909 und bei einem anderen von 7 Jahren (XII) in der Rezidivkurve bis 1500.

Ueberhaupt beobachten wir bei Kindern dieselben Schwingungsformen wie bei Erwachsenen (vergl. I mit XVI und VI mit X), und hier wie dort scheinen Form und Konzentration abhängig von der besonderen Reaktionseigentümlichkeit des einzelnen Individuums.

Wenn wir aber in derselben Gruppe gleichartig verlaufender, unkomplizierter Krankheitsfälle alle die verschiedenen Formen von Agglutininschwingungen treffen, so leuchtet die Unmöglichkeit ein, eine Seroprognostik (Courmont) aufzustellen, die ja aus der Form und Höhe der Agglutininschwingungen den Verlauf der Krankheit bestimmen will.

Selbst wenn das klinische Material weniger gute Anhaltspunkte für die Bedeutung der individuellen Anlage für die Agglutininschwingungen gegeben hätte, würde die Unhaltbarkeit von Courmonts Prognostik doch aus den Fällen XXI und XXII, die beide unkompliziert am Schlusse der zweiten Krankheitswoche letal endigen, hervorgehen. Im letzten Falle tritt der Tod zu einem Zeitpunkte ein, wo die Konzentration im Abnehmen ist, im ersten Falle dagegen, während die Agglutininentwickelung schnell zunimmt.

Können wir aber den Agglutininschwingungen prognostische Bedeutung nicht zuschreiben, so können sie doch sehr gute Anhaltspunkte für die Diagnose geben. Man muß vom Steigen oder Abnehmen des Agglutinationswertes im Blute eines Patienten auf einen bestehenden oder verlaufenden (abnehmenden) Typhusprozeß[2]) schließen können, während der unveränderte Wert auf normale Anwesenheit von Agglutinin deuten muß.

Doch muß es ja hier von großer Bedeutung sein, die Agglutininschwingungen bei normalen und bei Individuen mit febrilen Krankheiten zu untersuchen.

Konklusionen.

1) Zur Messung von Agglutinin ist die makroskopische Untersuchung der mikroskopischen absolut vorzuziehen.

2) Bei der von Jörgensen und Madsen angegebenen Methode kann der Agglutiningehalt verschiedener Flüssigkeiten mit einem Fehler,

---

1) Bisweilen erscheint auch eine neue Schwingung, ohne daß sich gleichzeitig klinische Zeichen für Rezidive nachweisen lassen (XI, XIII, XXIII).

1) l. c.

2) Abgesehen von dem seltenen Falle der Mitagglutination.

der in einer überwiegenden Anzahl von Fällen 9 Proz. nicht überschreitet, in der Regel aber bedeutend geringer ist, mit genügender Uebung gemessen werden.

3) Nach einer Einzelinjektion der Kultur von B. typh. — resp. B. coli und V. cholerae — an Kaninchen und Ziegen kommt eine Agglutininentwickelung in Gang, die durch eine Kurve ausgedrückt werden kann, von einem ähnlich regelmäßigen Typus, wie er für andere Antistoffe gilt.

4) Die Kurve zerfällt in drei Phasen:

1. Phase: 2—3 Tage, die Zeit, die verläuft, ehe das Agglutinin sich im Blute zeigt (Latenzzeit).
2. Phase: 5—9 Tage, eine Steigerung bis zum Maximum am 7. bis 9. Tage nach der Injektion (gewöhnlich der 9. Tag).
3. Phase: Ein Fallen, das plötzlich beginnt, darauf sich langsamer fortsetzt und wahrscheinlich kontinuierlich anhält.

5) Die Größe und Form der Ausschläge ist — unter den gleichen Verhältnissen — wesentlich von der Individualität des Organismus abhängig.

6) Tägliche Injektionen mit kleinen Kulturmengen geben eine ähnliche Kurve mit verlängerter erster und zweiter Phase. Die dritte Phase, das Fallen, beginnt plötzlich und dauert an, selbst bei fortgesetzter Injektion.

7) Die durch jeden dritten Tag vorgenommene Injektionen hervorgerufene Agglutininentwickelung findet in einer Kurve Ausdruck, die sich aus mehreren aufeinanderfolgenden Einzelschwingungen zusammensetzt.

8) Wird in der zweiten Phase der Agglutininentwickelung nach einer Kulturdosis (B. typh. oder B. coli) eine neue Injektion derselben Kultur oder der Kultur eines anderen Mikroben (B. coli oder B. typh.) gegeben, so bleibt die Agglutininentwickelung nach der letzten relativ gering.

9) Im Blute von Typhuspatienten findet eine Agglutininentwickelung statt, die in Kurven ausgedrückt werden kann, die den Kurven bei Tierversuchen, besonders denen, die sich nach täglichen Injektionen entwickeln, außerordentlich ähnlich sind.

10) Man kann die Agglutininschwingungen bei F. typhoidea nicht als prognostisches Hilfsmittel benutzen.

Zum Schluß meinen herzlichsten Dank dem Direktor des Laboratoriums des Seruminstitutes, Herrn Dr. Th. Madsen, für seine vorzügliche Anleitung und sein freundliches Interesse für meine Arbeit.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae.

[Aus dem pathol.-anat. Institute in Wien (Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. **J. Heyrovský.**

Die spezifische Agglutination der Bakterien hat bekanntlich bisher sowohl dem Kliniker bei der Diagnose der Infektionskrankheiten, wie auch dem Bakteriologen in der Bakteriodiagnostik große Dienste geleistet.

Dennoch ist die praktische Seite dieses Phänomens, speziell in der Bakteriodiagnostik, noch nicht vollkommen ausgenützt worden.

So ist die Frage der Arteinheit des Streptococcus pyogenes durch Agglutination trotz mehrfachen Versuchen nicht einwandsfrei gelöst. Noch weniger ist es bisher gelungen — ja eigentlich an einem größeren Materiale von Stämmen überhaupt nicht versucht worden — über die Arteinheit der sogenannten Varietäten der Species Diplococcus pneumoniae durch spezifische Agglutination einige Klarheit zu schaffen.

Die Ursache, warum dies bisher nicht gelang, mag darin liegen, daß die Verwertung des Agglutinationsphänomens des Diplococcus pneumoniae für die Bakteriodiagnostik auf große technische Schwierigkeiten stößt.

Abgesehen davon, daß die Fortzüchtung einer größeren Reihe von Stämmen dieses Mikroorganismus wegen des schlechten Wachstums auf den gebräuchlichen Nährböden mit Schwierigkeiten verknüpft und die Erhaltung bezw. Bestimmung der bei der Agglutination immerhin zu berücksichtigenden Virulenz schwer durchführbar ist, gelingt die Bereitung eines nur mäßig hoch agglutinierenden Serums durch Immunisierung von Tieren keineswegs leicht. Der Umstand endlich, daß ein solches Serum, sowohl im Tierkörper wie auch außerhalb desselben, in kürzester Zeit seine Agglutinationskraft fast vollkommen verliert, erschwert die präzise Durchführung der Agglutination mit mehreren Stämmen bedeutend.

Es sei mir deshalb erlaubt, eine Agglutinationsmethode des typischen Diplococcus pneumoniae zu beschreiben, deren Durchführung bedeutend einfacher ist, und die auch einiges theoretisches Interesse haben mag.

Da diese Methode auf der unvergleichlich leichteren, spezifischen Agglutinierbarkeit einer bestimmten „Degenerationsform“ des Diplococcus pneumoniae beruht, so sei hier auch auf einige biologische Eigenschaften dieses Mikroorganismus näher eingegangen.

Bevor ich dieses Thema bespreche, halte ich es für notwendig, über die Provenienz und das kulturelle Verhalten der zu meinen Untersuchungen benützten Stämme einige Daten vorauszuschicken, und die bisher bekannten Tatsachen über die Agglutination des Diplococcus pneumoniae kurz anzugeben. Die genauere Beschreibung des kulturellen Verhaltens meiner Stämme halte ich deshalb für notwendig, weil alle Forscher, die sich mit dem Studium des Diplococcus pneumoniae näher befaßt haben, Varietäten desselben anzunehmen geneigt sind.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Meine Beobachtungen beziehen sich auf die typische Form des Diplococcus pneumoniae.

Sämtliche Stämme, mit deren Biologie ich mich befaßte, und auf die sich die folgenden Beobachtungen beziehen, wurden aus dem pneumonischen Exsudate von Fällen typischer kruppöser, lobärer Lungenentzündung (Leichenmaterial) in Reinkultur gezüchtet und zeigten bei monatelanger Fortzüchtung das gleiche kulturelle Verhalten.

Sie besaßen alle eine mehr oder minder ausgesprochene Lanzettform und zeigten Kapselbildung im Blute infizierter Tiere, töteten weiße Mäuse und Kaninchen nach subkutaner Impfung entsprechender Mengen durch Septikämie, wuchsen in Gelatine bei 20° C entweder gar nicht oder äußerst kümmerlich und erst nach mehreren Tagen, und bildeten in gewöhnlicher, alkalischer Bouillon eine leichte, diffuse Trübung, wobei es nie zur Bildung von längeren Ketten kam, vielmehr lagen die einzelnen Diploformen vereinzelt oder höchstens in geraden, kurzen Ketten. Sämtliche Stämme wurden endlich durch ein, nur mit einen Stamm erzeugtes spezifisches Kaninchenserum mehr oder minder hoch agglutiniert.

Alle irgend eine Abweichung vom typischen kulturellen und morphologischen Verhalten zeigenden Stämme sind in die folgende Mitteilung nicht einbezogen, da meine Untersuchungen über Biologie und Agglutination derselben noch nicht abgeschlossen sind.

Ein der Agglutination des Diploc. pneum. nahestehendes Phänomen wurde zuerst von Metschnikoff[1]) (1891) beschrieben und zwar noch vor dem Bekanntwerden der spezifischen Agglutination der Bakterien durch die Arbeiten Grubers und Durhams (1896).

Metschnikoff konnte nämlich in reinem Serum der gegen Diploc. pneum. immunisierten Kaninchen ein Wachstum in langen, vielfach gewundenen Ketten beobachten, während dieselben Mikroorganismen beim Wachstum im normalen Kaninchenserum stets Diplokokkenform zeigten. Diese Tatsache wurde nachher von Mosny[2]), Kruse und Pansini[3]), Washbourne[4]) u. a. bestätigt, von Besançon und Griffon[5]) auch beim Wachstum des Diploc. pneum. im Serum von Pneumoniekranken gefunden und seither oft beobachtet.

Dieses Phänomen ist dem Verhalten anderer Bakterien beim Wachstum in entsprechendem Immunserum [Charrin, Roger[6]) 1889 beim B. pyocyaneus, Landsteiner[7]) 1897 beim Pneumobacillus und Mäusetyphusbacillus, Pfaundler[8]) 1898 bei dem Bact. coli] analog und dem Phänomen der Agglutination im Wesen sehr nahestehend.

Die Agglutination des Diploc. pneum. im Sinne der Gruber-Widalschen Reaktion, mit anderen Worten die Häufchenbildung in Bouillonkulturen nach Zusatz von geringen Mengen eines spezifischen Serums, wurde erst im Jahre 1901 von Neufeld[9]) beschrieben. Die Ursache, warum diese Reaktion eines spezifischen Serums den früheren, mit der Einwirkung eines Immunserums auf den Diploc. pneum. sich eifrig beschäftigenden Forschern entging, erblickt Neufeld in der

---

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1891. p. 473, 474.
2) Zitiert nach Neufeld.
3) Zeitschrift f. Hyg. etc. Bd. IX. 1891. p. 279.
4) Ref. Baumgartens Jahresbericht. 1895. p. 61.
5) Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. p. 449.
6) Soc. de biolog. 1889. Zitiert nach Landsteiner.
7) Wiener klin. Wochenschr. 1897. No. 19.
8) Centralbl. f. Bakt. etc. 1898. No. 1—4 u. Wiener klin. Wchnschr. 1899. No. 13.
9) Zeitschrift f. Hyg. etc. 1901.

schweren Agglutinierbarkeit des Diploc. pneum. überhaupt, sowie in der Schwierigkeit, ein gut agglutinierendes Serum bei Tieren zu erzeugen.

Die von Neufeld beobachteten Tatsachen sind im kurzen folgende:

Das Auftreten eines starken Agglutiningehaltes im Serum immunisierter Kaninchen ist durchaus unabhängig von der Höhe der Immunität, welche das betreffende Tier besitzt, vielmehr unabhängig von der letzten Reaktion, die es durchgemacht hat; bei weiterer Immunisierung schwächt sich das Agglutinationsvermögen des Serums beträchtlich ab und ist oft bei hochimmunen Tieren gar nicht mehr vorhanden.

Der verhältnismäßig geringe Agglutinationswert der stärksten Sera (1 : 60) ist nicht ohne weiteres in Parallele zu stellen mit Agglutinationswerten bei der Agglutination anderer Bakterien, da diese bereits vom normalen Serum beeinflußt werden, was beim Diploc. pneum. (mindestens durch Kaninchen- und Menschenserum) nicht der Fall ist.

Die Agglutination des Diploc. pneum. zeigt manche Besonderheiten sowohl bezüglich der Form, unter welcher sie verläuft, wie auch bezüglich der Resistenz der agglutinablen Substanz der Bakterienleiber gegenüber hohen Hitzegraden.

Die wesentlichen Erscheinungen bei der Agglutination des Diploc. pneum. sind nach Neufeld die Quellung der Kokkenleiber mit nachfolgender Häufchenbildung, oder bei schwächer wirkenden Seris die durchaus regelmäßige, an die bereits erwähnte Fadenreaktion erinnernde Anordnung der einzelnen Diplokokken zu langen, zierlich gewundenen Ketten.

Bezüglich meiner Beobachtungen über die Agglutination des „gut erhaltenen“ [1]) Diploc. pneum. kann ich mich kurz fassen, da sie mit den Beobachtungen Neufelds übereinstimmen und einige hierher gehörige Tatsachen in dem nunmehr zu besprechenden Thema über Agglutination des „degenerierten“ Diploc. pneum. erwähnt werden sollen.

In alten Kulturen von Bakterien, namentlich in flüssigen Nährböden, kann man bekanntlich Veränderungen des Bakterienleibes beobachten, die auf Tod und Zerfall desselben einen Schluß ziehen lassen, und die begreiflicherweise manche Analogie mit Veränderungen der Bakterien zeigen, welche dieselben im Kampfe mit dem von ihnen befallenen und sich wehrenden Organismus erleiden. Während nun den morphologischen Veränderungen der Schädigung und des Absterbens der Bakterien durch die im Organismus sich bildenden Schutzstoffe aus begreiflichen Gründen große Aufmerksamkeit geschenkt wird, bleiben die interessanten Einzelheiten der Degeneration und Auflösung von Bakterien in alten Kulturflüssigkeiten meist unbeachtet, obwohl sie in mancher Beziehung für die einzelne Bakterienart charakteristisch sind.

Ueber Agglutination degenerierter Bakterien, bezw. alter flüssiger Kulturen mit spezifischem Serum findet man in der Literatur nur wenige und zum Teil sich widersprechende Angaben. So behauptet Malvoz [2]), daß alte Kulturen inagglutinabel werden, und Nicolle [3]) übereinstimmend mit demselben, daß gewaschene Typhusbacillen aus

---

1) Im folgenden werden der Kürze halber mit dem Ausdrucke „gut erhaltener“ Diploc. pneum. die in einer 12—24-stündigen Bouillonkultur sich findenden typischen Kokkenformen, mit dem Ausdrucke „degenerierter“ Diploc. pneum. bestimmte, unten näher beschriebene Degenerationsformen des Diploc. pneum. beim Wachstum in einer 1-proz. Zuckerbouillon bezeichnet.

2 u. 3) Zitiert nach Eisenberg und Volk.

1 Monat alten Bouillonkulturen sich schlecht oder gar nicht agglutinieren lassen. Eisenberg und Volk[1]) konnten dagegen diese Angaben nicht bestätigen; sie fanden vielmehr, daß sich aus einige Monate alten Bouillonkulturen gewonnene und gewaschene Typhusbacillen prompt und gut agglutinieren lassen.

Diese letzte Beobachtung entspricht auch der bereits lange bekannten Tatsache, daß in der vitalen Energie geschädigte und namentlich avirulent gewordene Bakterien in der Regel besser agglutiniert werden, als die kurz aus den pathologischen Produkten isolierten und virulenten Mikroorganismen.

Als Kulturflüssigkeit für das Studium der Degeneration des Diploc. pneum. habe ich eine alkalische 1-proz. Traubenzuckerbouillon benützt.

Infolge des äußerst üppigen Wachstums des Diploc. pneum. in dieser Nährflüssigkeit ist die Menge der dabei gebildeten Stoffwechselprodukte eine beträchtliche und die deletäre Einwirkung derselben auf die gewucherten Kokken eine in die Augen fallende. Falls die diffuse, dichte Trübung der Glykosebouillon, wie dies regelmäßig der Fall ist, wenn man letztere mit einer größeren Menge frisch auf Agar gezüchteter Diplokokken beschickt, nach 12-stündigem Verweilen bei Bruttemperatur ihr Maximum erreicht, so findet man nach weiteren 4 Stunden die Diplokokken bereits in verschiedenen Stadien der Degeneration. Während die älteren vegetativen Formen sich bei der Gram-Färbung bereits entfärben und bei der Nachfärbung mit Fuchsin mehr oder minder intensiv tingiert werden, sind die jüngeren Formen noch Gram-positiv. Die Zahl der nach Gram sich entfärbenden Kokken nimmt rapid zu, so daß nach im ganzen 24-stündigem Verweilen bei Bruttemperatur regelmäßig kein einziger Coccus mehr sich Gram-positiv färbt und kein einziger als lebens- und vermehrungsfähig zu betrachten ist, da weder die Ueberimpfung auf Nährböden, die ihnen sonst am meisten zusagen, noch auch die Infektion auf empfängliche Versuchstiere gelingt.

Noch auffallender ist das rasche Absterben des Diploc. peum. beim Wachstum in der Zuckerbouillon dann, wenn man kleine Mengen (ca. 1 ccm) dieser Kulturflüssigkeit mit einem Tropfen septikämischen (diplokokkenhaltigen) Blutes beimpft.

In diesem Falle gelingt trotz des äußerst üppigen Wachstums der mit dem Blute eingeimpften Kokken die Abimpfung, sowie die intraperitoneale Infektion einer Maus, bereits nach 12-stündigem Wachstum bei Bruttemperatur nicht, während die geringste Menge einer ebenso beimpften einfachen Bouillonkultur eine Maus rasch an Septikämie tötet.

Das überaus rasche Absterben, sowie die unten näher beschriebene Degeneration des typischen Diploc. pneum. in der 1-proz. Traubenzuckerbouillon habe ich so konstant beobachtet, daß ich in diesem Verhalten ein Differenzierungsmerkmal des Diploc. pneum. vom Streptococcus pyogenes erblicke, der sich seinen Stoffwechselprodukten gegenüber viel resistenter verhält. Die weiteren Erscheinungen des Zerfalles der abgestorbenen Kokken sind folgende: Die einzelnen Diplokokken und kurzen Ketten schrumpfen augenscheinlich, wobei offenbar ein Teil des Bakterienkörpers aufgelöst wird und die geschrumpften Formen bilden weiterhin kleine Häufchen, die teils einen spärlichen Bodensatz erzeugen, größtenteils aber lange

---

1) Zeitschrift f. Hyg. etc. 1902. p. 170.

Zeit suspendiert bleiben und dadurch eine mäßig starke Trübung der Kulturflüssigkeit bewirken, und so der schließlichen Auflösung lange Zeit Widerstand leisten; ihre vollständige Auflösung kann aber durch Alkalisierung der sauren Kulturflüssigkeit sofort bewerkstelligt werden. Die trübe Kulturflüssigkeit klärt sich nach Zusatz von geringer Menge NaOH sofort völlig auf und von der ganzen üppigen Vegetation des Diploc. pneum. ist keine Spur vorhanden.

Der so rasch eintretende Stillstand des Wachstums und das rasche Absterben des Diploc. pneum. in Traubenzuckerbouillon ist namentlich durch die Säuerung der Kulturflüssigkeit bedingt; durch rechtzeitige und wiederholte vorsichtige Neutralisation des Nährbodens (mit verdünnter Natronlauge) gelingt es oft, den Coccus länger lebend und überimpfbar zu erhalten, wobei aber nur eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Kokken weiter vegetiert und die Bouillon von neuem säuert. Zwingt man nun auf diese eben erwähnte Weise die Diplokokken in ihren sich anhäufenden Stoffwechselprodukten weiter zu vegetieren, so gelingt es oft, eine Wachstumsform zu erzielen, die der oben erwähnten von Metschnikoff zuerst beschriebenen Wachstumsform des Diplococcus in Immunseris vollkommen gleich ist, ein Umstand, der beweist, daß der Diploc. pneum. auf die schädigende Einwirkung der Stoffwechselprodukte ebenso reagiert, wie auf die in einem Immunserum vorhandenen Schutzstoffe.

Die geschrumpften und zum Teil schon durch Stoffwechselprodukte agglutinierten (oben beschriebenen) Kokkenleiber einerseits, und die durch Alkalisierung der Kulturflüssigkeit erzielte Lösung der Kokken andererseits, zeigen nun der Agglutination und Präzipitation vollkommen analoge Reaktionen schon nach Zusatz einer so geringen Menge eines spezifischen Kaninchenserums, die die „gut erhaltenen“, schwer agglutinierbaren Diplokokken in keiner Weise beeinflußt.

Die zu den erwähnten Reaktionen benützten Sera wurden sämtlich durch die Behandlung von Kaninchen mit Injektionen von teils durch Hitze (70° C, 10 Minuten) abgetöteten, teils lebenden Pneumokokken gewonnen. Zur Immunisierung eines Tieres wurde immer nur 1 Stamm verwendet.

Die erste Reihe von Versuchstieren wurde ausschließlich mit bei 70° C (10 Minuten) abgetöteten, von schiefen 24-stündigen Agarkulturen stammenden und (mit Vermeidung des Kondenswassers) in Bouillon aufgeschwemmten Diplokokken behandelt, wobei verhältnismäßig große Mengen (Aufschwemmungen von 20—30 üppig bewachsenen Serum-Agarröhrchen) in 8-tägigen Intervallen wiederholt intraperitoneal injiziert wurden. Die Immunwerte der so gewonnenen Sera waren sehr gering. Die agglutinierende Einwirkung auf frische Bouillonkulturen von Diplokokken war sehr geringfügig, oft nur bei Verdünnung 1:1, höchstens 1:4 ausgesprochen. Der homologe Stamm zeigte immer, andere kulturell vollkommen mit diesen übereinstimmende Stämme oft das von Metschnikoff beschriebene agglutinierte Wachstum in einem solchen reinen Serum. Hingegen zeigten diese Sera sämtlich in beträchtlichen Verdünnungen charakteristische Reaktionen auf die oben beschriebenen Degenerationsformen der Diplokokken.

Eine andere Reihe von Kaninchen wurde nach der von Neufeld beschriebenen Methode behandelt. Das Grundprinzip dieser Methode bildet die möglichst ausschließliche Benützung der Kokkenleiber mit

Vermeidung der Stoffwechselprodukte[1]) und zwar empfiehlt Neufeld eine einmalige Einverleibung einer großen Menge bei 70° C abgetöteter Diplokokken, und nach 10 Tagen die erste Injektion einer bereits hohen Dosis lebender Kultur, die einigemal rasch nacheinander in steigenden Mengen wiederholt, lange dauernde und intensive fieberhafte Reaktionen hervorrufen soll. Auf diese Weise kann man nach Neufeld leicht ein hochwertiges Immunserum, oft (aber keineswegs immer) auch ein gut agglutinierendes Serum erzeugen. Meine diesbezüglichen Versuche führten insoweit zu denselben Resultaten, als es mir tatsächlich bei zwei Tieren gelang, ein die frischen Bouillonkulturen der Diplokokken verhältnismäßig hoch agglutinierendes Serum zu erzeugen, und diese Eigenschaft beider Sera bei weiterer Behandlung der Tiere rasch verschwand, während sich der Immunitätsgrad steigerte; jedoch arbeitete ich mit beträchtlichen Tierverlusten und halte dieselben bei der schwankenden und nicht immer abschätzbaren Virulenz des Diploc. pneum. für unmeidlich.

Eine ausgesprochene und hochgradige Quellung der Diplokokkenleiber bei der Agglutination, so wie sie Neufeld beschreibt, konnte ich nur bei zwei von Menschen stammenden Seris (ein Fall von krupöser Pneumonie nach der Krise und ein Fall von Diplokokkenmeningitis und Endocarditis [Leichenmaterial]) beobachten, nie dagegen bei den durch die oben beschriebenen Immunisierungsarten erzeugten Kaninchenseris; wohl deshalb, weil es mir bisher nicht gelang, so hochwertige Sera wie sie Neufeld beschreibt (Agglutinat. bis 1 : 60) und wie ich sie zweimal bei Diplokokkeninfektionen des Menschen fand, künstlich bei Kaninchen zu erzeugen. Diese Vermutung stützt namentlich der Umstand, daß ich die zweite, bei schwächer wirkenden Seris von Neufeld beobachtete Erscheinung, nämlich die Anordnung der Diplokokken zu langen, zierlich gewundenen Ketten oft beobachtet habe. Mein stärkstes Kaninchenserum agglutinierte den homologen frisch gezüchteten Stamm bis zur Verdünnung 1 : 30, die heterologen Stämme mindestens zur Verdünnung 1 : 10.

Nach meinen, allerdings größtenteils am Leichenmateriale gesammelten Erfahrungen (40 Fälle) findet man auch bei Diplokokkeninfektionen des Menschen nur selten, ein den homologen Stamm auch nur mäßig hoch (1 : 20) agglutinierendes Serum.

Es soll nun die Agglutination der „degenerierten“ Diplokokken durch die auf die oben beschriebenen zwei Immunisierungsmethoden erzeugten Sera beschrieben werden.

Wird die bei 37° C gut gewachsene 12—20-stündige Traubenzuckerbouillonkultur aus dem Brutofen genommen und einige Tage bei Zimmertemperatur gehalten, so vollzieht sich die Degeneration der Diplokokken in einigen Tagen; die diffuse Trübung geht ein wenig zurück und die Kultur zeigt nach geringem Zusatz von NaOH eine typische Reaktion. Während nämlich die 12-stündige Kultur durch Zusatz von einer noch so großen Menge Na-Lauge nicht gelöst wird, vielmehr eine durch Ueberschuß von Alkali hervorgerufene nicht spezifische Agglutination zeigt, löst sich eine degenerierte Kultur nach Zusatz einer kleinen Menge Natronlauge vollkommen auf.

---

[1]) Auch in der ersten Versuchsreihe wurden die Stoffwechselprodukte dadurch vermieden, daß eine Aufschwemmung schiefer Agarkulturen ohne Kondenswasser benutzt wurde.

Es wurde schon erwähnt, daß die Mikroorganismen in einer solchen einige Tage alten Kulturflüssigkeit bereits zum Teil in Häufchen liegen, doch sind dieselben bei der Betrachtung der Kulturflüssigkeit mit bloßem Auge oder einer Lupe auch bei einer sehr alten Kultur nicht sichtbar, die Flüssigkeit ist vielmehr diffus trüb.

Wird nun zu einer solchen, mehrere Tage alten, degenerierten Glykosebouillonkultur des Diploc. pneum. eine geringe Menge des spezifischen Serums zugesetzt, so tritt nach 12-stündigem Verweilen der Proben bei Zimmertemperatur typische Agglutination auf, während die Kontrollproben mit derselben Menge eines normalen Kaninchenserums diffus getrübt bleiben.

Die Erscheinungen der makroskopisch untersuchten Agglutination sind den Agglutinationserscheinungen anderer Bakterien durchaus ähnlich. Während sich bei schwächeren Verdünnungen des spezifischen Serums die Kulturflüssigkeit vollkommen klärt und die Mikroorganismen zusammengeballt am Boden des Gefäßes liegen, zeigt bei stärkeren Verdünnungen die Kulturflüssigkeit eine teils schon mit bloßem Auge, teils mit der Lupe sichtbare Flockenbildung und je nach der Beobachtungszeit mehr oder minder ausgesprochenes Sediment.

Die beschriebene Reaktion ist durchaus spezifisch. Die Bildung von Flocken tritt in einer noch so alten Zuckerbouillonkultur des Diploc. pneum. ohne Zusatz von Serum nie auf und das sich bildende Sediment verteilt sich immer beim Aufschütteln zur diffusen Trübung.

Ein normales Kaninchenserum vermag nur bei starken Konzentrationen (bis 1 : 5) und nur bei einer sehr degenerierten Kultur eine Flockenbildung zu erzeugen. Die mikroskopisch (im hängenden Tropfen) untersuchte Agglutination läßt sich viel schwerer beurteilen, da man, wie bereits erwähnt wurde, kleine Häufchen in jeder degenerierten Kultur findet; doch ist auch hier, falls man Kontrollproben mit normalem Serum anstellt, die agglutinierende Wirkung des spezifischen Serums unverkennbar. Die beschriebene Agglutination wurde bei der ursprünglichen schwach sauren Reaktion der Kultur ausgeführt; sie vollzieht sich ebensogut auch bei neutraler Reaktion der Kulturflüssigkeit.

Nachdem diese Beobachtungen der leichten spezifischen Agglutinierbarkeit der degenerierten Formen gemacht worden waren, lag es nahe, an einer durch geringen Zusatz von Normalnatronlauge gelösten, nachher vorsichtig (durch stark verdünnte Salzsäure) neutralisierten, klaren Lösung der Diplokokkenleiber auch die Präzipitation nach Kraus zu prüfen.

Tatsächlich gelingt diese Reaktion nach Zusatz von spezifischem Serum leicht. Setzt man nämlich ein die „degenerierten“ Formen hoch agglutinierendes Serum zu der oben beschriebenen Lösung im Verhältnis 1 : 1 bis 1 : 4, so fällt die Präzipitinreaktion positiv aus. Die kurz nach dem Zusatz des Serums noch klare Flüssigkeit trübt sich in einigen Stunden (bei Zimmertemperatur) durch Flockenbildung und nach 12 Stunden ist bereits ein voluminöses Präzipitat vorhanden.

Auch klare Filtrate einer degenerierten Traubenzuckerbouillonkultur zeigen nach Zusatz von spezifischem Serum in oben erwähnten Verdünnungen dieselbe Reaktion, nur sind die Präzipitate nicht so voluminös. Hingegen gelang es mir nicht, mit meinen Seris eine Präzipitation in den Filtraten einer alten einfachen Bouillonkultur des Diploc. pneum. zu erzielen; allerdings ist anzunehmen, daß bei dem spärlichen Wachstum des Diploc. pneum. in der Bouillon, daselbst nur eine viel geringere Menge gelöster Diplokokkenleiber vorhanden ist.

Auch bei der Präzipitinreaktion wurden immer Kontrollproben mit normalem Kaninchenserum angestellt und fielen durchwegs negativ aus. Die Spezifität der Reaktion ist demnach nicht zu bezweifeln.

Die eben beschriebenen Präzipitate lösen sich ähnlich wie Präzipitate anderer Bakterien[1]) nach Zusatz geringer Mengen Lauge vollkommen auf.

Bevor wir nun die Agglutination der „degenerierten“ Formen des Diploc. pneum. einigen Erwägungen unterziehen, sei hier die agglutinierende und präzipitierende Einwirkung, der Kürze halber nur von zweien meiner Sera, auf die „gut erhaltenen“ Diplokokken und auf die degenerierten Formen derselben, tabellarisch festgestellt:

Serum	Agglutination einer 24-stündigen Bouillonkultur	Agglutination einer degenerierten Glykosebouillonkultur	Präzipitation der gelösten degenerierten Formen
Serum vom Kaninchen K_6 nach 6 intraperitoneal. Injektionen von im ganzen 198 schiefen Agarkulturen d. Stammes P_6 am 17. Juli 1904	Stamm P_6 1 : 1 negativ 1 : 50 „	Stamm P_6 1 : 40 positiv 1 : 60 negativ	Stamm P_6 1 : 1 negativ
Serum desselben Tieres nach 2 weiteren Injektionen (im ganzen injiziert eine Aufschwemmung von 240 schiefen Agarkulturen) am 2. Aug. 1904	Stamm P_6 1 : 1 positiv 1 : 4 Spur 1 : 6 negativ	Stamm P_6 bis 1 : 120 positiv	Stamm P_6 bis 1 : 3 positiv
Dasselbe Serum nach 2 Monaten (aufbewahrt im Eisschrank ohne Zusatz von Desinfizientien) am 2. Okt. 1904	Stamm P_6 1 : 1 negativ	Stamm P_6 bis 1 : 100 positiv	Stamm P_6 bis 1 : 3 positiv
Serum vom Kaninchen K_{29} behandelt mit Stamm P_{29} nach Neufeld am 4. Okt. 1904	Stamm P_{29} bis 1 : 30 positiv	Stamm P_{29} bis 1 : 100 positiv	Stamm P_{29} bis 1 : 4 positiv
Dasselbe Serum nach 10 Tagen (aufbewahrt im Eisschrank ohne Zusatz von Desinfizientien) am 14. Okt. 1904	Stamm P_{29} 1 : 1 positiv 1 : 4 negativ	Stamm P_{29} bis 1 : 80 positiv	Stamm P_{29} bis 1 : 3 positiv
Serum desselben Tieres nach weiterer Behandlung am 30. Nov. 1904	Stamm P_{29} 1 : 1 positiv 1 : 4 negativ	Stamm P_{29} bis 1 : 20 positiv	Stamm P_{29} 1 : 1 positiv

Aus obigen Agglutinationsresultaten ist zu ersehen:

1) daß ein spezifisches Serum, welches eine 24-stündige Bouillonkultur des Diploc. pneum. in keiner Weise beeinflußt, den gleichen, aber „degenerierten“ Stamm in bereits bemerkenswerter Verdünnung spezifisch agglutiniert;

---

[1]) Siehe die Arbeit von Eisenberg und Volk. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 192.)

2) **daß ein, die 24-stündige Bouillonkultur agglutinierendes Serum die „degenerierten“ Formen desselben Stammes in unvergleichlich höheren Verdünnungen zu agglutinieren vermag;**

3) **daß ein die 24-stündige Bouillonkultur des Diploc. pneum. nur in sehr hohen Konzentrationen agglutinierendes Serum, die gelösten „degenerierten“ Formen desselben Stammes bereits in Verdünnungen zu fällen vermag, bei welchen die 24-stündige Bouillonkultur gar nicht mehr agglutiniert wird.**

Bevor wir nun die leichtere Agglutinierbarkeit der beschriebenen „degenerierten“ Formen des Diploc. pneum. zu erklären versuchen, so müssen wir die Frage beantworten, ob die bei den beschriebenen Agglutinationsphänomen des Diploc. pneum. identisch seien, mit anderen Worten, ob bei den beiden Reaktionen dieselben Agglutinine des Serums, sowie dieselben agglutinablen Substanzen der Kokken, in Betracht kommen.

Es muß zuerst als festgestellt angenommen werden, daß die bei den beiden Agglutinationen in Betracht kommenden Kokkenleiber von chemisch verschiedener Beschaffenheit sind; dies beweist, abgesehen von dem tinktoriellen und morphologischen Verhalten, das durchaus verschiedene Verhalten der Kokkenleiber gegenüber einigen chemischen Reaktionen.

Die „degenerierten“ Diplokokken werden durch einen geringen Zusatz von Natronlauge vollkommen gelöst, während die nicht degenerierten ungelöst bleiben.

Die Auflösung vollzieht sich nicht nur bei in der Kulturflüssigkeit suspendierten, sondern auch bei durch Zentrifugieren ausgeschleuderten und gewaschenen Kokkenleibern, so daß eine etwa unter den Stoffwechselprodukten vorhandene, an die Kokkenleiber nicht gebundene und nur bei alkalischer Reaktion in Aktion tretende Substanz nicht anzunehmen ist.

Diese Verschiedenheit der chemischen Beschaffenheit beider Arten von Kokkenleibern schließt aber das Vorhandensein einer gleichen bei den beiden Agglutinationen in Betracht kommenden Substanz in den Kokkenleibern nicht aus; vielmehr sprechen einige Umstände für die Identität derselben bei den beiden Reaktionen.

1) Wie schon Neufeld nachweisen konnte, ist die agglutinable Substanz des Diploc. pneum. hitzebeständig; dies ist nun, wie ich mich überzeugen konnte, auch bei unseren degenerierten Formen der Fall.

2) Ferner konnte ich bei angestellten Absorptionsversuchen feststellen, daß beide in Betracht kommenden Agglutinine — ihre Verschiedenheit vorausgesetzt — sowohl von den lebenden und gut erhaltenen Diplokokken, wie auch von den degenerierten (aus der Kulturflüssigkeit durch Abzentrifugieren ausgeschleuderten und wiederholt gewaschenen Kokkenleibern) absorbiert werden.

Was nun die Agglutinine anbelangt, so sprechen einige Umstände allerdings dafür, daß jene nicht vollkommen identisch sind. Vergleicht man nämlich die Agglutinationswerte der Sera einerseits bei der Agglutination der frisch gezüchteten Kokken, andererseits bei der Agglutination der „degenerierten“ Formen, so fällt auf, daß diese letzten Werte nicht immer proportional höher sind, wie es zu erwarten wäre.

Um ein Beispiel anzuführen, so agglutiniert ein Serum K_6 den nicht degenerierten homologen Stamm P_6 bis zur Verdünnung 1:2, denselben degenerierten Stamm bis zur Verdünnung 1 : 120, ein anderes Serum den nicht degenerierten homologen Stamm P_{29} bis zur Verdünnung 1 : 30, denselben degeneriert aber nur bis 1 : 100.

Weiter schwindet die Fähigkeit eines (im Eisschrank ohne Zusatz von Antisepticis) aufbewahrten sterilen Serums, die „gut erhaltenen Kokken“ zu agglutinieren sehr rasch, in einigen Tagen, während dasselbe Serum die Fähigkeit, die „degenerierten“ Formen zu agglutinieren und zu präzipitieren lange Zeit hindurch fast ungeschwächt behält (siehe die Tabelle). Es ist somit als wahrscheinlich anzunehmen, daß die beiden Agglutinine nicht vollkommen identisch sind, doch spielt, wie ich glaube, dieser Umstand bei der Beantwortung unserer Frage nach der leichteren Agglutinierbarkeit der „degenerierten“ Formen des Diploc. pneum. keine wichtige Rolle.

Nachdem nämlich festgestellt wurde, daß die nicht degenerierten Diplokokken beide Agglutinine zu binden vermögen, so geht daraus hervor, daß die Ursache der leichteren Agglutinierbarkeit der „degenerierten“ Formen in den Kokkenleibern liegt.

Da es mir nun auf keine andere Weise (durch Beeinflussung der Kokkenleiber durch Hitze und chemische Agentien, namentlich Säuren) gelang, die frisch gezüchteten Diplokokken in ähnlicher Weise wie die „degenerierten“ Formen durch spezifisches Serum leicht agglutinabel zu machen, so muß ich mich darauf beschränken, den eigenartigen Einfluß der Stoffwechselprodukte auf den Diploc. pneum. zu konstatieren.

Interessant und bemerkenswert bleibt immerhin der Umstand, daß eine Degenerationsform des Diploc. pneum. durch ein spezifisches Serum unvergleichlich besser agglutiniert wird, als der frisch gezüchtete und zur Erzeugung des Serums im nicht degenerierten Zustande benutzte Stamm.

Nachdruck verboten.

On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum.

[From the Institute for the Investigation of Infectious Diseases: University of Bern (Director Prof. Dr. Tavel).]

By Dr. **Henry J. Südmersen.**

With 1 fig. and 1 diagram.

(Schluß.)

The surface colonies upon agar of Bacillus B are characterised by an irregular hazy halo surrounding a central nucleus where the growth is very much denser and raised above the surface. The colonies have a tendency to run together. These characters distinguish its colonies from those of Bacillus A.

The bacillus resembles Bacillus A in being small and usually arranged in pairs end to end. In young culture it is actively motile, but this motility is slightly different from that of Bacillus A. There can be little doubt regarding its affinity to this bacillus although it does not possess the property of being agglutinated by the immune serum.

In culture the following are its chief characters:

Agar. Growth takes place rapidly in the form of a thick greyish white viscid layer. In stab culture there is very little growth observed along the line of puncture, but on the surface this rapidly spreads to the wall of the tube.

Gelatine. Liquefaction starts from the surface of a stab culture and extending into the gelatine along the puncture forms a depression at the bottom of which the microorganisms form a thick greyish mass. Already on the fifth day the surface is covered by a layer of liquefied gelatine to a depth of $^1/_2$ cm or more.

Bouillon becomes very turbid 24 hours after inoculation at the temperature of 37° C, this when shaken and held before the light shows the peculiar shimmer above remarked upon, an appearance which is common in young broth cultures of actively motile organisms. A thick deposit is formed after a few days, and a slight film is sometimes observed. Indol is not formed in peptone broth culture. Gas is abundantly formed in glucose bouillon.

Milk. After a few days a whitish slimy deposit is formed and the liquid becomes clear above. Later the liquid becomes yellowish in colour at the same time much of the slimy sediment has disappeared. A 10 day's culture is found to contain much peptone.

Potatoe. Grows well and forms at first a dirty yellow viscid layer which changes to a yellowish brown colour later. The potato itself is coloured dirty brown or chocolate.

Bacillus C. During the latter part of November and early in December several rabbits succumbed to a lung infection different from that due to Bacillus A which was also prevalent at that time. These animals were large and exhibited no remarkable diminution in weight. Around the nose and occupying its cavities there was usually present a small quantity of thick greyish white mucus, but this was not always present. The animals so affected died suddenly without showing any symptoms other than a rise of temperature to 40—41° C which took place a day or two before death, and a difficulty in respiration which may be accompanied by rales. On dissection great portions of the lungs were found to be occupied by a thick creamy pus; the pleurae and pericardium were bound by thick adhesions, and contained large masses of loose fibrin. The spleen was small, other organs appeared normal. A smear preparation of the purulent matter was seen to be crowded with a small Diplobacillus having the appearance of Bacillus A, and decolorised by Gram's method. No other organisms were to be observed. In contradistinction to the organisms already described growth does not readily take place in ordinary culture media. No result was obtained by streaking an agar surface, but along the line of puncture in stab agar a pale bluish grey diffuse growth made its appearance after the second or third day of incubation in some tubes. The attempt to grow it in gelatine was attended with a similar result; no liquefaction occured. In gelatine small isolated colonies of a brownish grey colour by transmitted light sometimes appeared in place of the diffuse cloudy growth along the track in the depth of the culture medium. In broth growth takes place very slowly at the bottom of the tube forming a pale gelatinous mass which is removed entire by the platinum needle (zoogloea). The broth remains quite clear above; a 10 day's culture give a strong positive indol reaction. No growth was obtained in milk or on potato. Intrathoracic and intratracheal injections of broth cultures gave rise to the disease in rabbits.

The following descriptions relate to organisms, the pathological significance of which is doubtful, and to those which appear to be accidentally and occasionally present in parts of the respiratory tract.

Bacillus D. This was obtained in association with Bacillus E from the trachea and bronchi of a rabbit which died with moisture around nose and mouth and besmeared for some distance around the anus. The lungs were much congested, coecum and upper part of the colon injected and distended with gas. The bacillus possesses all the characteristics of the Colibacillus, is motile, aërobic, and facultative anaërobic, on agar the growth is abundant after 24 hours incubation and when coloured with neutral red becomes fluorescent on the following day. Gelatine is not liquefied, the surface growth is abundant and dull grey in appearance, along the line of puncture brownish grey. In broth grows well, a deposit forms and liquid is very turbid on the day following inoculation. Indol is detected in peptone bouillon on the 3rd day, a strong reaction is obtained on the 6th day. Gas is formed in glucose bouillon. Milk becomes completely coagulated on the 2nd day. Potato is stained dirty grey, a brownish yellow viscid growth appears after 24 hours incubation.

Bacillus E was found associated with Bacillus D as above mentioned. It is decolourised by Gram's method, is facultative anaërobic and non-motile. A culture in bouillon was not agglutinated by Coli-immune serum from Bacilus D. It grows well on agar forming a thick dull greyish layer similar to Bacillus coli; along the line of puncture in stab agar a slight growth is evident. Broth becomes very turbid on the 2nd day; no film is formed. The bacilli are short and stout and in pairs which are united to form chains. The slimy deposit growth appears as though made up of small masses due probably to this tendency of forming chains, and which is comparable to that possessed by Streptococcus longus of growing in isolated balls in broth culture. Gas is not produced in glucose broth; indol is not formed in peptone broth. Gelatine is not liquefied. The growth on potato is not abundant, is creamy in yellow young culture and hardly distinguishable from the colour of the potato, later this becomes dull grey with a shining surface, the potato itself is similarly coloured.

Bacillus F. This was obtained from the trachea of a rabbit suffering with strongly marked symptoms of a pulmonary infection; the nose was thickly covered with mucus discharge and the animal had become listless and much emaciated. The lungs were much congested, other organs appeared sound. The bacillus conforms with the Colibacillus D in most of its characters. It is however non-motile, and is not agglutinated by the immune serum of this bacillus. The superficial colonies on agar exhibit a beautiful iridescence resulting from the mode of increase by the formation of wavy concentrically arranged rings. The growth of the colonies on agar is rapid. It is a facultative anaërobic organism, on the surface of agar the growth is of a viscid consistency and dull grey appearance. It grows well in bouillon without film formation. It produced gas in glucose broth and indol in peptone broth. Gelatine is not liquefied. Milk is coagulated. The colour of the growth on potato is a deep chocolate brown after 3 or 4 days incubation the colour of the potato becomes similar but less intense. In old broth cultures various curved and long forms are prevalent.

Bacillus G (Bac. fluorescens liquefaciens). In 2 cases this organism was found in the lungs of rabbits which had died with symptoms similar to those caused by the Bacillus A; it was present in pure culture in both cases. It is a slender motile bacillus; its colonies on agar after 24 hours incubation are larger than those of the Colibacillus, the agar has already become stained an olive green colour at the end of this time, this becomes of a fluorescent green, and in old culture tea green and ultimately brown in colour. Groups of needle-shaped crystals appear in the agar. The growth on agar surface is abundant and grey. Gelatine is liquefied and becomes emerald green and fluorescent. Liquefaction commences from the surface and extends downwards; the organisms form a thick grey layer on the surface of the unliquefied gelatine. On the surface of bouillon a thick grey film is formed, the fluid assumes a yellowish green colour at the end of 24 hours this changes to a brilliant green with strong fluorescence on the 3nd day, the colour being more intense towards the surface. No gas is evolved in glucose broth. In milk a slimy deposit is at first formed which later disappears. The milk is of a clear yellow green which becomes bluish green near the surface. Potato becomes stained bluish green at the end of 24 hours and becomes of a dirty dark green colour on the 4th day. The growth is abundant, brownish, viscid.

This bacillus often occurs in the nasal excretion and pharynx of infected rabbits and Guinea pigs.

Staphylococcus roseus was on several occasions found in various parts of the respiratory tract of infected rabbits. It was obtained in association with Bacillus A in plate cultures from the lungs in 3 cases, but so sparsely represented that its presence can only be considered accidental. The colonies on agar were large and white in the incubator, but assume a rose tint at the ordinary temperature. It stains well with methylene blue and by Gram's method. Grows well on agar and gelatine, the gelatine is not liquefied; a sedimentary growth of a pale pink colour appears in broth without film formation; in glucose broth no gas is produced; indol is not formed; milk is not coagulated; on potato numerous raised colonies of a brick- or cinnabar-red colour. It is a facultative anaërobe.

Staphylococcus albus and Staph. aureus are occasionally found in cultures from the lungs of rabbits infected with Bacillus A.

The bacillus to be described was obtained from the nasal excretion of a rabbit. Upon the surface of agar a wrinkled yellowish brown layer is soon developed over the entire surface. This consists of a mass of oval spores, the protoplasm being located at each pole as a small protuberance. With longer bacilli it is seen that the spore is of much greater width than the bacillus and forms a large swelling at its end. A thick wrinkled film appeared the following day on broth; the broth itself remains quite clear, its colour changes however to a dirty yellowish brown after a few days. Indol is not formed. Milk is not coagulated, a buff-coloured sediment appears, later becomes a dirty brownish yellow.

If a broth culture of about 10 days be stained after Gram's method it will be seen the bacillus retains the stain, on the other hand the parts of the bacillus in the neighbourhood of spores, or where spore formation is taking place are decolourised. The line which marks off the part of the bacillus strongly stained by Gram from the decolourised part is sharp, there being no gradual transition as a rule. This alteration in its staining reaction is of interest in regard to the constitution of bacterial protoplasm and its metabolic products. Upon what does the difference in behaviour to Gram's stain as shown by different organisms depend? Is it due to a difference in the living protoplasm itself or does it depend on the different nature of its metabolic products. In this connection it is known that alterations in staining reaction may occur under various circumstances. Bordet in 1896 described such changes during phagocytosis as exhibited by alteration in the staining reaction of the ingested organism for methylene blue and eosin. I have observed instances in which bacilli outside the cell were decolourised, those within being stained by Gram's method, and often in the same phagocyte all intermediate stages of alteration could be observed.

Symptoms and post mortem appearances.

In the descriptions of the microorganisms and in the introduction a general idea of the symptoms and pathological appearances has already been given. I shall here describe some typical cases more fully, so that similarities and dissimilarities due to the nature of the infection may be exemplified.

Cases arising from the presence of Bacillus A. † Dec. 2 1903. Large rabbit from the Institute's stock which had been losing in weight for some time previous. The nose was besmeared with a thick whitish exudation; there was no diarrhoea. The left nasal cavity was filled with a purulent caseous mass, while the right cavity appeared free from mucus. In the larynx was a small collection of slimy mucus, the pharynx was moist and swollen, the trachea injected. The lungs were hyperaemic and oedematous. The small intestine contained a yellowish slime with numerous gas bubbles, in the rectum the faeces were solid. The walls of the small intestine and coecum were injected in places; more than the usual quantity of fluid was present in the peritoneum. All the other organs were normal in appearance.

A smear preparation from the lungs showed the presence of numerous small bacilli; in the nasal pus a long slender bacillus was present in addition to small bacilli similar to those found in the lung. Bacillus A was obtained in pure culture from the lung.

Diarrhoea is usually an accompanying symptom. In the above case there was no external appearance of this at the time of death.

† Jan. 14 1903. A Guinea pig which had fallen considerably in weight, and of which the nose had become blocked by a thick mucous secretion. The lungs were found in an advanced condition of hepatisation in places, other parts were highly congested. The left lung was more affected than the right; much mucus had collected in the bronchi. The larynx and epiglottis was much swollen and covered with mucus which had collected immediately below and had partially blocked up the trachea. The blood vessels of the trachea were injected, and its membrane moist and swollen. The stomach and intestine were almost

empty. Spleen small; kidney, cortex pale in colour, ecchymoses in glomerular region.

A smear preparation from the lung was seen to be crowded with very small bacilli, and on agar surface a pure culture was obtained. The identity of this with Bacillus A was proved hy the fact that it was agglutinated by the antiserum of this bacillus. Many Guinea pigs have succumbed to this infection.

Cases arising from Bacillus B.

The following case will suffice, since others agreed in all essential features with it. All cases examined by me in which this bacillus occured arose among experiment animals; this does not preclude the possibility of infection by this bacillus having arisen also among the stock animals, since the time at my disposal would not then allow of a thorough bacteriological investigation of each case.

† Febr. 2 1903. Rabbit which had been previously injected with filtered cultures of Pneumococcus; but at no time with living organisms. For 2 weeks previous to its death the weight had been constantly and rapidly falling, so that at last the animal had wasted down to about $^2/_3$ of its original weight. The nose was thickly besmeared with a whitish creamy mucous, the anus was coated around for some distance with soft brown faecal matter. The interior of both nasal cavities was found to contain a fairly large quantity of whitish mucus similar to that on the exterior. The tracheal mucus membrane was swollen and injected and thickly coated with slimy mucus. The lungs were bright red in colour and pulpy; on pressure much frothy mucus was extruded. The stomach was almost empty, some yellowish green slime was present in the flaccid small intestines.

Cases arising from Bacillus C.

The first cases which came under my observation were two large rabbits which died on the morning of the 28th November 1903. They were both exceptionally large and fine looking animals at the time of death. The outer surface of the nose was besmeared in the one case but not in the other. The intestines in each case were distended with gas bubbles, the spleen was small; the other abdominal organs had a normal appearance. In each case a most striking appearance was presented when the thorax was opened. The lungs were extensively adherent to the body wall and the pericardium, the pericardium and pleura contained thick deposits of fibrin and pus. These deposits were so thick that both the heart and lungs were in large measure concealed. On cutting through this layer, the heart was observed to be very large and in a fatty stage of degeneration, while large portions of the lungs were almost entirely replaced by a mass of thick creamy pus, the remaining lung tissue had undergone consolidation, very little could be considered in any degree functional.

† Dec. 10 1903. Rabbit which had shown signs of infection since the 21st of November; it did not show any noteworthy diminution in weight, its temperature was at times sub-normal but for some days before death a temperature of 41—42° C was frequently recorded. From the nasal exudation Staphylococcus aureus and two kinds of bacilli which were decolorised by Gram were obtained in culture. The post mortem appearance was essentially similar to that above described.

A smear preparation from the lungs in all the above cases showed

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

the presence of a very small Diplobacillus which was decolorised by Gram's method. A non-stainable area was generally observed to surround the bacillus, and since this was seen in air-dried preparations fixed by alcohol and ether must be considered as due to the presence of a capsule. Its tendency to grow as a zoogloea at the bottom of broth has been remarked upon.

The following case is given as an instance of nasal catarrh associated with pulmonary tuberculosis. On the 27th May 1903 a rabbit suspected of infectious pneumonia was killed. The temperature immediately before death was 39,2° C. It had wasted considerably. The surface around the nose was besmeared with a thick greyish white exudation, there was some oozing from the fore corners of the eyes. The lungs were highly tuberculous, no other organisms besides the tubercle bacillus were observed. The liver was dark coloured. In the kidneys were a few large white purulent foci. Spleen normal. Heart large, soft, pale colour. From the interior of the nose various bacillus and cocci were obtained in culture on agar surface.

Cases have occured of rabbits having died of other diseases with more or less strongly marked rhinitis. In some cases culture media inoculated from the lungs (which have shown no abnormal condition), have remained sterile. Similar cases have likewise occurred among Guinea pigs though the rhinitis has not been so well marked as in rabbits. It is hardly conceivable in such cases that the rhinitis has been the cause of death, a coccidiosis with which some were affected may account for their deaths, but in other instances of the kind I could not find any appearance serious enough to be considered the cause of death. A careful investigation of this matter would be of great interest.

On the preparation of an immune serum against Bacillus A, the causal agent of an infectious pneumonia in rabbits.

Before describing the process of immunisation some results obtained by the injection of living and filtered cultures may be conveniently given in this place. Similar experiments were made with some of the other microorganisms previously described, but these were not so fully carried out, and will therefore not be treated of at present. Rabbits were used for the injections.

Intratracheal injections.

March 7 1903. 2,5 ccm culture. Saline emulsion of a 48 hours old culture of Bacillus A on agar.

	Weight	Temperature
March 7 (Before injection)	2590 g	39,6° C
March 12	2500 „	
„ 17	2240 „	38,9° „ thick nasal exudation
„ 20	1970 „	39,2° „
„ 21 †		

Dec. 21 1903. 2 ccm culture. Emulsion as above.

	Weight	Temperature
Dec. 21 (Before injection)	920	39,2° C
Dec. 23	870	39,15° „
„ 26	Well marked exudation of a thick slimy mucus around nose. Bronchial rales	
„ 28	900	much nasal catarrh

A gradual recovery now seemed to take place, on the 8th January the exudation had disappeared. Its weight was then 915 g. The bacillus had been isolated about 6 months previous, and had lost much of its virulence. About 3 weeks later animal was observed to be in a bad condition and died on the 30th January with all the characteristic symptoms of the infection. Its weight was then 790 g.

Dec. 8 1903. 0,5 ccm culture. Emulsion as above. Before injection 1850 g. 39,4° C.

On the 12th of December some slight exudation around nose. A preparation showed the presence of Staphylococcus together with various bacilli. On the 16th its weight was 1800 g, the exudation existed as a small dried patch. On the 20th its weight was 1760 g, after which a gain in weight occurred until the 27th its weight having then risen to 1880 g; on the 30th it became reduced to 1830 g while the mouth and nose were both extensively moistened with mucus. Death took place on the 2nd January 1904; its weight after death was 1650 g. The lungs did not exhibit any very striking abnormal appearance beyond hyperaemia, the pleura contained much fluid. The intestines were distended with gas, but were not congested. The spleen was small, liver normal. The trachea was partially blocked by a mass consisting of leucocytes and epithelium together with various bacilli: a long thin bacillus, a Coli-like bacillus, and a large number of small bacilli. The latter bacillus was isolated and its identity demonstrated by its characteristic growth on potato and other peculiarities. The same bacillus was found in the lungs in pure culture.

The above cases are selected to give an idea of the inconstant results attending intratracheal injections. The last case exhibits a very variable course, this as well as the 2nd case showed signs of recovery, then of re-infection. Since the animals were carefully isolated, this re-infection must have been due to re-activity of latent bacilli under more favourable circumstances. The first is a typical case; death resulting after a period of about 14 days.

I could not determine a minimal lethal dose for intratracheal injections, since the results were so various. In several cases with small doses recovery took place without any signs of re-infection subsequently.

Intrathoracic injections.

Jan. 14 1904. 3 ccm culture. Saline emulsion of a 48 hours culture of Bacillus A on agar.

	Weight	Temperature
Jan. 14 (Before injection)	1200 g	39,8° C
Jan. 18	1050 „	39,5° „
„ 21	970 „	
„ 23 †		

Both lungs were largely occupied by pus, but more especially was this the case with the right lung into which the injection was made. Fibrinous pleuritis with adhesions. Stomach much distended with gas, duodenum and small intestine filled with yellow slime; numerous large gas bubbles in large intestine and coecum. The anus was besmeared with soft faeces. In peritoneum large fibrinous masses in neighbourhood of liver and stomach. The trachea somewhat injected and moist; no exudation from nose. From the lungs a pure culture of Bacillus A was obtained.

This case is remarkable in regard to the purulent condition of the lungs, the marked peritonitis, and absence of nasal exudation.

Jan. 22 1904. 3 ccm culture. Emulsion as above.

	Weight	Temperature
Jan. 22 (Before injection)	630 g	39,8° C
Jan. 25	570 „	slight nasal exudation
„ 28	540 „	39,6° C
Febr. 1	500 „	
„ 3 †		slight accumulation of mucus in left nostril

The post mortem appearances exactly simulated those of spontaneous cases. Both lungs were highly congested and oedematous. The right lung into which the injection was made was more particularly affected. There was no formation of pus as in the preceding case in which death took place earlier owing to the greater virulence of the culture.

No adhesions were observed. The peritoneum was congested; spleen small, pale in color. The small intestine contained a yellowish slime in which gas bubbles were present. There was slight moisture around the nostrils. The mucous membrane of the pharynx and trachea was oedematous, that of the trachea was congested and thickly coated with mucous.

Sub-cutaneous and intraperitoneal injections.

The behaviour of cultures of Bacillus A was similar to that of the Colibacillus D when injected sub-cutaneous or intraperitoneal. In both cases a somewhat low grade of virulence was indicated. Although there is a general similarity in the effects a difference is observable in the longer duration of an infection by the Bacillus A than by the Colibacillus, when a quantity just below the fatal dose is injected. The rabbit which has received the culture of Bacillus A gradually loses weight and exhibits other signs of infection for a much longer time than the rabbit which has received an injection of the Colibacillus. In the latter case recovery commences at latest a few days after the injection, while in the former case signs of illness may exist even 3 weeks afterwards.

Injections of filtered cultures.

Cultures in bouillon of various ages were filtered through a Chamberland filter and injected sub-cutaneous, intraperitoneal and intravenous. The filtrates were of a pale straw colour, which differed in shade with the age of the culture, being darker in old than in young cultures. The toxic action was well marked when the injection was made in the venous system, and but slight when introduced beneath the skin or in the abdomen. That the filtrates possessed but feeble action is not surprising, since as is well known a large number of organisms which undoubtedly produce toxin in the animal body fail to do so in culture.

The following results are selected:

May 16 1903. Rabbit injected sub-cutaneous with 10 ccm filtrate from a 12 days' culture of Bacillus A.

	Weight	Temperature	Remarks
May 16 (Before injection)	1600 g	39,55 ° C	Temp. 41,2 ° C (4 hrs. after injection)
May 18	1420 „	39,45 ° „	Large swelling
„ 19	1450 „	39,1 ° „	„ „
„ 20	1480 „	39,3 ° „	„ „
„ 22	1610 „	39,8 ° „	„ „

Febr. 24 1904. Rabbit injected sub-cutaneous with 10 ccm filtrate from a 20 days' culture of Bacillus A.

	Weight	Temperature	Remarks
Febr. 24 (Before injection)	900 g	39,2 ° C	Temp. 42 ° C (5 hours after injection)
Febr. 25	950 „	39,7 ° „	Very large swelling
„ 26	920 „	38,7 ° „	„ „ „
„ 27	930 „	38,8 ° „	„ „ „

In both cases the swelling at the seat of injection was much inflamed, the hair completely fell off and later necrosis set in.

The last case differs from the first in that no fall in weight occurs. A fall in weight usually takes place, but differences in this respect are very probably due to some alteration of the toxin in old cultures, or to inconstancy of this symptom for sub-cutaneous injections and therefore varying according to the animal's constitution.

The above cases give evidence of toxic action chiefly in the rise of temperature immediately after injection, and the extensive necrosis at the seat of injection. The case is different and more pronounced with intravenous injections.

Febr. 24 1904. Rabbit injected in the ear vein with 7 ccm filtrate from a 20 days' culture of Bacillus A.

	Weight	Temperature	Remarks
Febr. 24 (Before injection)	1030 g	39,3 ° C	1 hr. 40 mins. after injection the temp. was 38,2 ° C. The animal crouches away in the far corner of cage, and has voided a large quantity of fluid faeces. — 3 hrs. after injection temp. = 37,4 ° C
Febr. 25	960 „	38,6 ° „	do. do.
„ 26	980 „	—	do. do.
„ 27	820 „	—	do. do.
March 1 †	—	—	found † 8 a. m.

P. m. 10 a. m. Lungs with numerous hemorrhagic areas which give a marbled or mottled appearance to its surface; towards the apex of the left lung this is more pronounced, the whole of this part being highly congested with some extravasation. The small intestine contains much yellow slimy matter and numerous gas bubbles. The rectum contains semi-solid faeces, in places there are gas bubbles. The anus is besmeared for some distance around. Urinary bladder distended with urine. Trachea somewhat injected. The larynx is oedematous, and there is moisture about the nose and mouth.

The fact that the lungs are affected together with the very rapid action on the glands of the mucous membrane of the alimentary tract is of interest and shows that these appearances in cases of infection are due to the toxin which the organism elaborates and which passes into the blood stream.

A frog which was injected with a culture filtrate in the lymph sac was unaffected; while another frog into which 3 ccm filtrate from an old culture of the Colibacillus D was injected showed accelerated and laboured respiration half an hour after; it then commenced croaking which increased in frequency, being very rapid 1—1½ hours after the injection had been made. When placed on its back the animal made ineffectual attempts to assume the erect position. Similarly 2 ccm unfiltered culture of Bacillus A had no effect while the same dose of Colibacillus D when injected in the abdominal cavity caused the death of the frog 7 days after.

Immunisation.

Since it was proved that the Bacillus A was the cause of the most frequently occurring form of pneumonia, and was capable of reproducing the infection when a culture was injected in the respiratory tract of normal animals, experiments were made in order to determine whether injections of attenuated cultures of this bacillus would confer immunity. I found that 10 ccm of a culture which had been previously heated to 60° C for 30 minutes was easily tolerated by a rabbit weighing 1500 g when introduced in the peritoneum. Three such injections with an interval of 5 days between each were made. The result was a fall in weight after each injection, from which there was however a rapid return to the normal. This animal proved to be immune against a dose of culture more than that required to cause the death of a control animal when injected in the peritoneum. Two weeks afterwards an intrathoracic injection of 3,5 ccm of living culture of Bacillus A merely caused a temporary loss in weight while a control animal which received a similar dose was found dead on the morning of the 5th day following the injection. Experiments were also made in order to determine whether rabbits which had been injected with attenuated cultures of the Bacillus A are proof against spontaneous infection arising from contact with diseased animals. The results prove conclusively that this is the case. I have kept the animals which were in process of immunisation as much as possible in contact with the most severe cases without at any time more serious symptoms than a temporary appearance of a rhinitis. These results are interesting in consideration of the fact that all pneumonias with which rabbits are affected are not due to the same microorganism, and it is probable that rabbits suffering from some other form of pneumonia have come into contact with these animals without communicating their disease. Is it possible that protection against some of these other bacilli having access to the lungs is at the same time produced by protective inoculations against Bacillus A? It is certainly probable that some other pneumonias are of a secondary character and depend on some primary disease for their development, and for this reason are not to be considered as infectious under normal conditions. This supposition is supported by the lesser frequency of these forms of pneumonia. Experiments which I have made show that Bacillus A and Bacillus D when injected in protective doses do not confer immunity the one against the other for intraperitoneal or sub-cutaneous injections.

In the process of immunisation I had recourse to intraperitoneal injections in order to avoid abscess formation. At first dead cultures were employed, as much as 30 ccm of a 48 hour's culture previously heated to 60° C for 30 minutes was finally given at one injection. The dose of virulent culture is gradually increased according to indications given by the weight, the temperature record being of less value unless an overdose has been given when a fall occurs which in serious cases may last for some days or until death occurs. Such a condition should be avoided, the dose must not be repeated before the animal has recovered its normal weight, and should not be increased too rapidly. Dr. Wright working with Staphylococcus vaccine found that the bactericidal power of the blood falls after an injection. This he denominates the "negative phase" of bactericidal activity and is of longer or shorter duration according to the quantity of vaccine injected. This phase appears to correspond to the period of phagocytic activity, at which time all the protective forces of the body cells are being called into play in carrying on the struggle against the invading microorganisms. At such a crisis it is easily conceivable that a slight addition to the forces of the invader would turn the balance in their favour. An immunised rabbit was accidentally injected before recovery from the previous injection had occurred, in other words at a time when its blood was still in a negative phase. Prolonged illness marked by daily diminution of weight, and temperature depression resulted, from which it is questionable whether the animal would have recovered. Death occurred during the process of bleeding before a quantity of blood had been removed equal to a third of that which can be safely drawn from a normal animal. This blood exhibited a lower bacteriolytic power than that possessed by normal rabbits' blood although it still showed an agglutinating reaction against a culture of Bacillus A.

The following table is given as showing what may be considered a process of immunisation carried out as rapidly as the condition of the rabbit would allow. Other animals were differently treated; one was injected throughout with living culture extending over a period of about six months, but its serum did not appear much more potent than that obtained by this method (see table p. 725).

A thick patch of mucous was present in and surrounding the nostrils on the 7th January (before any living culture had been injected), but this disappeared later. After excessive doses as for instance those given on the 14th December and 18th January a fall in temperature was observed on the day following, in the last case this lasted for three days. In this respect the conditions are exactly opposite to those which I found to be the case after injecting an immunised rabbit with an overdose of the Colibacillus D. Here the temperature rises on the following days, although a depression may be evident during the first 6 or 8 hours following the injection. The last injection was made sub-cutaneous all others being intraperitoneal. In spite of the highly immunised condition of the animal large swellings

Date	Amount of culture injected		Weight
Nov. 20 1903	Culture of Bac. A heated to 60° C for 30 mins.	7 ccm intraperitoneal	1850 g
„ 23		10 „ „	1820 „
„ 27		10 „ „	1790 „
Dec. 1		10 „ „	1810 „
„ 5		10 „ „	1800 „
„ 10		15 „ „	1820 „
„ 12			1745 „
„ 14		15 „ „	1780 „
„ 19			1630 „
„ 21			1750 „
„ 23		20 „ „	1810 „
„ 28		5 „ living culture	1800 „
„ 30			1790 „
Jan. 4 1904		7 „ „ „	1810 „
„ 7		10 „ „ „	1775 „
„ 11			1700 „
„ 14		10 „ „ „	1780 „
„ 18		15 „ „ „	1780 „
„ 22			1660 „
„ 25			1700 „
„ 27		15 „ „ „	1790 „
Febr. 4		15 „ „ „	1800 „
„ 8		15 „ „ „	1770 „
„ 13		20 „ sub-cutaneous	1775 „
„ 26			1770 „

formed at the seat of sub-cutaneous injection (10 ccm was given on each side of the abdomen), which later became purulent. The hair completely disappeared and later the skin fell off exposing a large raw surface: recovery was very slow.

Agglutination and bacteriolysis.

The serum obtained from a rabbit which had been injected as above described possessed both agglutinative and bacteriolytic properties. A culture of Bacillus A in a dilution of 1 in 10000 of serum at first lost its motility, then small clumps formed, these united to form larger masses so that within 2 minutes the field of view was occupied by one or two such large masses with interspaces quite free from bacilli.

The serum obtained from a rabbit which had been injected with the Colibacillus D although it caused agglutination of this bacillus in very high dilution had no effect even in a 1 in 10 dilution on a culture of Bacillus A, and vice versa, the serum of rabbits immunised against the Bacillus A did not cause agglutination of the Colibacillus D.

The bactericidal tests were made by the addition of a standard loop-full of culture to 1 ccm of fresh serum, the mixture was kept in the incubator at 37° C and after definite intervals of time plates were poured from inoculated agar. Care was taken to distribute the organisms, the serum was stirred with the platinum loop before removal of the standard loop-full, and the inoculated agar was kept in agitation in the waterbath at a temperature of 42° C before pouring the plate. A control was always made at the same time by inoculating 1 ccm of saline solution with a loop-full of culture, and pouring a plate from this at the time the serum test was made. A platinum loop is more to be depended on for removing a definite quantity of liquid if the ring of wire be flattened by means of a small hammer. The loop should be

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

plunged down vertically into the liquid, since the quantity removed varies considerably when scooped up by the loop.

The experiments with Bacillus A showed a maximum reduction in the number of colonies in plates prepared after the serum had acted for from 4 hours to 4$^1/_2$ hours on the bacilli at 37° C; the number of colonies in plates poured after 6 hours incubation was in many cases nearly equal to those of control plates; thus showing a rapid growth after all Immunkörper had been removed from the serum.

Serum was drawn from the clot on the following day (18 hours after the blood had been drawn from the animal) and its bacteriolytic properties tested. This serum was also found to be strongly bactericidal.

Much difference of opinion prevails regarding the length of time an immune serum retains its bacteriolytic power, the results of different observers vary on this point. The differences appear to arise *a* in the length of time the serum has been left in contact with the clot and corpuscles and *b* in the specificity of the complement, since the microorganisms and experiment animals have been different in the different cases. It is now established that complement is not so uniform a body as was formerly supposed. According to Remy the bacteriolytic alexine of a rat's blood resists a temperature of 55—56° C for 35 minutes whereas its hemolytic alexine is destroyed. Noguchi has also found in cold blooded animals that the complements are multiple bodies and in different sera their destruction occurs at different temperatures. The presence of clot and cellular elements influences the length of time that a serum retains its bacteriolytic power after removal from the living body. This has been shown to be the case by A. Walker who found an increase of complement to take place when the serum is left in contact with the clot and demonstrated its presence in serum-free coagulum. Metschnikoff long ago held the complement to be a product of phagocytic activity, and it has been shown to be absent in body fluids free from cellular elements of the blood such as the aqueous humour of the eye.

Protective power of bacteriolytic sera in the living body.

That a serum which possesses bactericidal properties in vitro should likewise protect against an infection in the living body is in general found to be the case. This is doubtless always so if the antibacterial serum is obtained from the same species of animal as that into which it is inoculated for protective purposes. On the other hand if the animals are of different species complications may enter which annul its bactericidal power in the living body.

Bail and Pettersson working on anthrax have found that the amboceptors may possess a much greater affinity for the tissue cells than for the bacteria themselves, so that an absorption of the amboceptors by the tissues takes place, and leaves the animal in just as susceptible a condition as before the injection of serum.

It is also possible that the amboceptor of one animal may give rise to an antiamboceptor when injected into another species. This would likewise appear to depend on a greater affinity of certain of the body cells for the amboceptors than that possessed by the bacteria. The particular cells to which the amboceptors are anchored respond by

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

producing antiamboceptors in a way similar to that by which the amboceptors themselves were produced by the presence of bacteria.

It is likewise necessary for the efficiency of a serum that its amboceptors meet with complements possessing haptophore groups which fit the complementophile groups of the amboceptors. Should this not be case fresh defibrinated blood from the same species of animal as that from which the immune serum was obtained should be injected together with the immune serum in order to supply a fitting complement.

Of great interest is the fact that an overdose of immune serum may be ineffectual while complete protection is conferred by the injection of a lesser dose. In this connection Neisser and Wechsberg have shown that the amboceptor becomes at first attached to the bacteria and the complement becomes affixed afterwards. They suppose that the affinity of the complementophile group of the amboceptor for the complement becomes modified after this attachement to the bacterial cell. Should this affinity be thereby lowered the quantity of complement required to satisfy the freely circulating amboceptors will be first of all removed, so that with a sufficient excess of amboceptors, no complement will remain over for attachment to the fixed amboceptors. The bacteria are therefore in an unassailed position, although they may be loaded with amboceptors. If the affinity of the amboceptor is unaltered by its attachment to the cell a similar but less pronounced result may arise since the freely circulating remove the complement equally with the fixed amboceptors. Where the affinity is raised in the fixed amboceptors no disadvantage would appear to arise from the injection of an overdose of serum.

Again, if an excessive dose of culture has been injected into an animal it may happen as shown by Wassermann that protection is not conferred no matter how much antibacterial serum is injected. Ainley Walker has confirmed this for injections of typhoid culture and I have found the same to occur with Bacillus A after the injection of a large dose of living culture in a young rabbit. It would thus appear probable to be generally the case for all bacteria.

The following descriptions of experiments will serve to show the protective power of the specific immune serum in the living body.

I
Nov. 4 1903. Rabbit L. Weight 1080 g. Temp. 39,1° C. No serum.
5,30 p. m. 8 ccm broth culture of Bac. A injected into the peritoneum.
Nov. 5. † found dead 8 a. m.

From the peritoneal fluid a pure culture of Bacillus A was obtained.

II
Nov. 4 1903. Rabbit S. Weight 1000 g. Temp. 38,9° C.
10,45 a. m. 5 ccm antibacterial serum, I. P.
5,30 p. m. 9 ccm culture in broth (same as above) injected in the peritoneum.
Nov. 5. Weight 960 g. Temp. 38,7° C
„ 7. „ 910 „ „ 39,1° „
„ 9. „ 900 „ „ 39,0° „
„ 11. „ 940 „
Animal lived.

III
Nov. 6 1903. Rabbit M. Weight 1060 g. Temp. 39,1° C. No serum.
5,30 p. m. 8 ccm broth culture of Bac. A injected into the peritoneum.
Nov. 7. 9 a. m. Weight 1030 g. Temp. 36,5° C Breathing laboured; saliva exuded from month.
11 a. m. †.

From the peritoneal fluid a pure culture of Bacillus A was obtained.

Nov. 6. 1903. Rabbit M. Weight 980 g. Temp. 39,1° C.
11,30 a. m. 3 ccm antibacterial serum, I. P.
5,30 p. m. 9 ccm culture in broth (same as above) injected in the peritoneum.
Nov. 7. 9 a. m. Weight 950 g. Temp. 38,6° C.
12 a. m. Temp. 38,1° C.
IV Appears listless and crouches in corner of cage: stands with difficulty. 3 ccm antibacterial serum + 2 ccm fresh defibrinated normal serum injected partly in peritoneum and partly in ear vein.
Nov. 9. 11 a. m. Weight 930 g. Temp. 38,9° C.
„ 11. 945 g. Temp. 39,2° C.
Animal lived.

In experiment IV an opportunity occurred for testing the therapeutic value of the serum. The loss in weight and depression of temperature on the following day, taken in conjunction with the general appearance of the animal showed clearly that the animal was in a state of illness which doubtless would have terminated fatally some 4 or 5 hours later. Fresh serum was given at the same time in order to supply any deficiency of complement which might exist or to tide over the time necessary for the exhausted cells to recover their complement-producing capacity, it being probable that after repeated and violent stimulation a condition of functional paralysis both as regards immune body and complement-production may temporarily supervene.

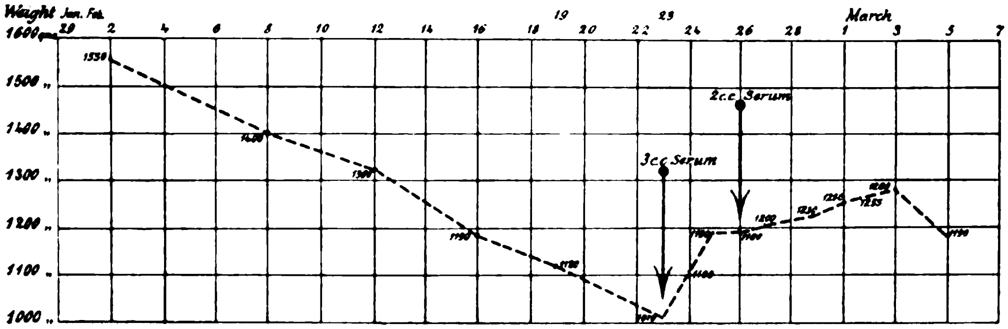
Both series of experiments show that the serum is capable of conferring passive immunity to rabbits. In each case the lighter and therefore presumably the more susceptible animal was used to test the serum efficiency, and in this animal also the dose of injected culture was considerably higher than in the control.

During the month of December and the early part of January when the infection was prevalent among the Institute's stock of rabbits I had not sufficient serum to test its efficiency on spontaneous cases at this most favourable time. On a previous occasion I had injected a rabbit apparently in an early stage of infection, with the result that a most marked improvement followed, and there was no subsequent relapse. This would appear to speak for the value of the serum but this matter will be referred to further on.

For a long time there was complete freedom from the epidemic except occasionally among the experimental rabbits, and upon these I was necessitated to try my serum from the next bleedings. Some rabbits which had received injections of tuberculous material in the peritoneum subsequently showed all the characteristic symptoms of an infectious pneumonia and these were kindly placed at my disposal. Loss of weight was very pronounced and rapid in the infected animals while the others in which the tubercle bacillus had also been injected remained more or less normal, at no time showing any remarkable diminution. The abdominal tuberculosis would appear of itself to introduce no unnecessary complications into the result. An examination of the exudation from the noses of infected animals showed a large number of staphylococci and some bacilli of various forms. In culture I succeeded in isolating Bacillus A from the noses in two cases which I investigated by plate cultivation. Those which died were examined, and from the lungs a pure culture of Bacillus A was obtained. A Guinea pig used for a similar purpose and kept with the rabbits also developed similar symptoms and died, the Bacillus A was obtained in pure culture from its lungs.

A rabbit in a very advanced stage of illness was selected in order to test the therapeutic value of the serum. The very serious condition of the animal was such that it was hardly expected to live another day at the time the injection of serum was given. The results of this investigation have been plotted out in curve form in order to exhibit more clearly the immediate and striking effect following an injection of serum.

Jan. 29 1904. A rabbit which had received an intraperitoneal injection of tuberculous material about 7 days previous was placed apart in consequence of showing symptoms of pneumonia. The presence of Bacillus A was detected in the nasal exudation, Staphylococcus albus was abundant, Staphylococcus roseus appeared in 2 colonies on agar slope. The nasal exudate was white and of a thick creamy consistence; at first small in quantity, became abundant, and again diminished, being slight at death.



The two injections of antibacterial serum were given intraperitoneally on the 23rd and 26th February. On the 5th of March a relapse had again taken place no further injections were however made. Respiration was difficult and noises as though due to blockage in the trachea were observed on the 7th the temperature was then 39,9 ° C; on the 8th the animal was found dead. The lungs especially in the anterior lobes were in great part hepatised the lobules sharply demarcated by interlobular infiltration. The trachea was injected and largely filled with mucous, a large semi-solid purulent plug in its middle part no doubt accounted for the noises and difficulty of breathing observed on the preceding day: the larynx and epiglottis oedematous. Bacillus A was obtained in pure culture from the lungs. The mesentery and various abdominal organs were crowded with tuberculous foci.

Although this case which was injected at a time when the lungs were so far damaged that recovery could hardly have been expected even with a very much stronger serum ended fatally, it is evident that a marked influence was made on the course taken as shown by the rise in weight which immediately followed each injection. Complete recovery would doubtless have taken place if the injection had been made at an earlier period as for instance on the 10th or 12th of February. It must not be overlooked that had an injection been made at this time and recovery had taken place, no more would have been shown than what is indicated by the present experiment. A gain in weight would have followed the injection, but its recovery would have taught us nothing, since at this early stage of infection it often occurs that animals recover

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

without special treatment. The sudden rise in weight following the injection would have shown although less decidedly than in the above experiment, the specific action of the serum, since in cases of spontaneous recovery this rise is at first slow. The experiment above recorded is so decisive because at such an advanced stage of the disease nothing but the specific action of the serum can account for the sudden change. The less obvious rise following the next injection is not surprising when all circumstances are taken into consideration.

Conclusion.

The main results obtained in the course of these investigations will here be briefly recapitulated.

A pneumonia may arise in rabbits as the result of the pathological activity of more than one species of microorganism.

Organisms associated with such a disease and whose etiological connection has been established, together with such the presence of which lends suspicion to their possessing some aetiological significance have been described in some detail. A few organisms whose presence appears to be accidental have also been described because of their novelty or some interesting characters which they possess.

Pneumonia in rabbits is usually accompanied by a rhinitis; this appearance however is by no means confined to lung affections, but may arise in association with other disorders and also in animals otherwise normal. As a result the examination of the nasal exudate reveals the presence of various microorganisms; there is in fact no specific microorganism which produces this appearance. Although of more frequent occurrence in diseased animals it must be looked upon as in itself possessing but little pathological importance. In rabbits suffering from pneumonia the organism is present in the exudate mixed with other organisms of which Staphylococcus albus and St. aureus are almost if not constantly present, together with various bacilli. Whether the nose in such cases is the primary seat of the infection, from whence it spreads downwards to the lungs or whether the inflammatory oedema and discharge arises as a result of toxic action upon the sensitive nasal mucus membrane and serves as a nidus for the growth of the infective and other microorganisms has not been satisfactorily decided.

It is probable that certain pneumonias may arise secondarily to other infections whereby in consequence of the lessened resistance of the lung tissue an organism non-pathogenic under ordinary circumstances may become so. Some sporadic cases may thus be accounted for.

The symptoms are not always identical; an infection of the lungs has been recorded in which great temperature irregularities occur, sometimes rising very high; the animal shows no conspicuous loss in weight. The lungs at death are found to be largely replaced by purulent matter, and there are extensive adhesions with fibrinous pleuritis and peritonitis. Some properties of the bacillus causing this disease have been given. An intrathoracic injection of a bouillon culture reproduced the disease in normal rabbits.

A pneumonia of much commoner occurrence was characterised by great loss in weight and by the temperature either remaining normal or sinking, but never by a high temperature. A rhinitis is usually

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

present. More than one bacillus has been found responsible for an infection of the lungs with these symptoms.

By far the majority of cases examined were infected with the Bacillus A. The bacillus occurs generally pure in the lungs.

The contagion by Bacillus A occurs most frequently from November—December especially during damp and cold seasons and times of sudden weather changes. It is less frequent at other times of the year occurring then mostly in experiment animals, so that one must assume that the constitution of the affected animal plays some part in assisting the infective process or that the bacillus at different times possesses different degrees of virulence. Guinea pigs are susceptible to a similar infection of the lungs caused by the same bacillus, their death is accompanied by similar symptoms and post mortem appearances.

The disease is reproduced in a normal rabbit by the intratracheal or intrathoracic injection of a pure culture of the bacillus.

A toxin is produced in culture; and this was found to act most powerfully when injected into the vascular system. As a result of such an injection a marked effect on the mucous membrane of the respiratory and alimentary tract was observed. This observation supports the hypothesis that a rhinitis is induced by the toxin rendering the mucous membrane oedematous and thereby susceptible to septic invasion. The diarrhoea which so frequently occurs is shown to be due to circulating toxin. That the toxin exhibited so marked an action on the lung tissue is of great interest.

By the injection of attenuated cultures a rabbit may be protected. By the injection of gradually increasing doses of culture into a rabbit an immune serum is obtained.

The immune serum exhibits marked agglutinative and bactericidal properties, and when injected into a rabbit confers protection against a more than lethal dose of culture.

Injected into a rabbit already suffering from the infection artificially induced it at once gives evidence of its value by the rise in weight immediately following this and the fact that the animal recovers.

In the case of spontaneous infection even in the most advanced stage when the lungs have almost completely lost their functions the introduction of the serum into the rabbit is at once followed by an improvement; the rise in weight is immediate. This result shows decisively that its use in early stage of infection would have a marked influence in lowering the death rate. In very advanced stages the pathological alterations which have already taken place preclude the possibility of cure.

As a prevention against this infection the use of serum has been shown to be effective. This immunity is however passive and it is not likely that it will last so long as that conferred by the injection of vaccine. The injection of 20 ccm of a 4 or 5 day bouillon culture previously heated to 60° C for 20 minutes in 2 doses of 10 ccm with an interval of 7 day's between I have found to be sufficient to protect against infection; and all rabbits for experimental purposes should have been previously so treated say a month before use. Animals already suffering should of course be injected with immune serum.

Numerous experiments were made in order to determine whether the bacillus was present in any of the food stuffs and drinking water but with negative results.

I desire in conclusion to express my warmest thanks to Prof. Tavel for his kind assistance and advice so often given me during the course of this investigation.

Literatur.

Beck, Der Bacillus der Brustseuche beim Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1893. Okt.)

Kraus, Rudolf, Ueber den Erreger einer influenzaartigeu Kaninchenseuche. (Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1897.)

Tartakowsky, Die kontagiöse Pneumonie der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899.)

Schwer, Ueber einen neuen, Stallinfektionen verursachenden Mikroorganismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.

Noguchi, The interaction of the blood of cold blooded animals. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.)

Walker, E. W. Ainley, Some observations on the protective bodies. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.)

Wright, Treatment of acne furunculosis and sycosis by therapeutic inoculations of Staphylococcus vaccine. (British med. Journ. 1904. May 7.)

Bordet, Sur le mode d'action des serums preventifs. (Annales de l'Institut Pasteur. 1896. Avril.)

Wechsberg, Friedrich, Natürliche Immunität und bakterizide Heilsera. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1902.)

Bail und Pettersson, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.)

Neisser und Wechsberg, Ueber die Wirkungsart bakterizider Sera. (Münch. med. Wochenschr. 1901.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion.

Ein Beitrag zur Serumdiagnose beim Rotz.

[Aus dem pathologischen Institute der kgl. Universität Padua
(Vorstand: Prof. Dr. A. Bonome).]

Von Prof. Dr. **A. Bonome.**

(Schluß.)

Dasselbe fand ich zuletzt bei sowohl durch die Verdauungs- als auch durch die Nasenwege mit Rotzkulturen infizierten Pferden (Stute „Ceva“ und Wallach „Gigante“), die nach Verlauf einer bestimmten Krankheitsperiode in ihrer Ernährung und in lokalen Zuständen (Aufhören des Nasenausflusses, Vernarbung der Geschwüre und Schwund der Lymphdrüsenschwellung) sich besserten und auf Malleïn zu reagieren aufhörten, so daß man eingetretene Heilung annehmen konnte. Bei der Stute „Ceva“, die 2mal auf den normalen Verdauungswegen infiziert wurde, sank das wenige Tage nach der zweiten Einführung von Rotzkulturen in die Verdauungswege auf ein Maximum von 1 : 1105 gestiegene Agglutinationsvermögen 4 Monate später auf 1 : 350, während das Tier auch einen besseren Ernährungszustand zeigte. Vor dem Beginn der Versuche, als das Tier noch keine Malleïnreaktion gab, betrug das Agglutinationsvermögen 1 : 115 bis 1 : 150.

Bei dem Wallach „Gigante“ sank die Agglutinationskraft des Blutes von 1 : 460 bis 1 : 500, auf die sie einige Tage nach der auf die verwundete Nasenschleimhaut vorgenommenen Impfung gestiegen war, auf

1 : 200 bis 1 : 250, während am Beginn der Versuche die Agglutinationskraft seines normalen Blutserums 1 : 170 bis 1 : 184 betrug.

Diese Verminderung der Agglutinationsfähigkeit des Blutes, nicht nur bei den an starkem, tödlich verlaufendem, experimentellem Rotz erkrankten Pferden, die einen charakteristischen nekroskopischen Rotzbefund ergaben („Estimo"), sondern auch bei an verstecktem Rotz leidenden Pferden („Dandolo", „Chiari") oder bei solchen, die nicht mehr auf Malleïn reagierten (ceased reactor) und wegen ihres viele Monate nach erfolgter Infektion sehr gebesserten allgemeinen und lokalen Zustandes an eine eingetretene Heilung denken ließen (Wallach „Gigante" und Stute „Ceva") — diese Verminderung der Agglutinationsfähigkeit des Blutes also scheint bisher die Aufmerksamkeit der Forscher nicht auf sich gezogen zu haben, da hierüber in keiner der speziellen Arbeiten über die Serumdiagnose und über die Agglutination des Rotzbacillus Erwähnung geschieht.

Ich habe diese Schwankungen des Agglutinationsvermögens und ihre biologische Bedeutung mit größter Aufmerksamkeit verfolgt.

Anfangs habe ich, um die Verminderung des Agglutinationsvermögens zu erklären, besonders in schon sehr vorgeschrittenen Krankheitsfällen, die keine Heilung mehr erhoffen ließen, die Erschöpfung der organischen Schutzmittel infolge des Fortschreitens der Krankheit annehmen zu dürfen geglaubt. Ich dachte sogar, daß der durch die zunehmenden Gewebsveränderungen sehr mitgenommene Organismus nicht mehr die normale Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, besäße. So sehr auch diese Annahme logisch scheinen kann, darf sie doch nicht als die wahrscheinlichste angenommen werden, da das Phänomen der Verminderung der Agglutinationskraft von mir an 2 Pferden beobachtet wurde, die nach der experimentellen Infizierung mit Rotzkulturen nach gewisser Zeit eine Besserung zeigten (Wallach „Gigante" und Stute „Ceva") und auch aufhörten, auf Malleïn zu reagieren, weswegen sie als geheilt angesehen werden konnten und als solche gleich den immunisierten Pferden eine Vermehrung des Agglutiningehaltes hätten zeigen sollen.

Um eine Erklärung des Phänomens nach dem Standpunkte moderner Kenntnisse über den Agglutinationsmechanismus und über die Bildungsweise der Agglutinine zu geben, dürfte man annehmen, daß im Serum rotzkranker oder rotzverdächtiger Pferde, neben den unter dem Namen Agglutinine bekannten Antikörpern, noch andere Antikörper sich bilden, welche die Wirkung der Komplemente oder der Cytasen behindern, d. h. die sogenannten Antikomplemente[1]). — Diese Antikomplemente bänden einen Teil der Komplemente, wodurch der kleine, freibleibende Teil derselben nicht mehr hinreicht, das Agglutinin auf die im Körper des Rotzbacillus vorhandenen agglutinablen Substanzen wirksam zu machen. In den solche Antikomplemente enthaltenden Seris vollzöge sich dann die Agglutination der Rotzbacillen nicht, wenn auch die Menge der neugebildeten Agglutinine eine große ist.

Weniger wahrscheinlich scheint es, daß hierbei veränderte Solubilitätsverhältnisse der Agglutinine oder der Globuline ins Spiel kämen, die mit den Agglutininen vereinigt sind, oder daß es sich um veränderte Permeabilitätszustände der Rotzbacillen handle.

Um durch Experiment nachzuweisen, ob meine Annahme bezüglich des Mangels an wirksamen, d. h. von den Antikomplementen nicht gebundenen Komplementen, die entsprechendste sei, um die Verminderung des Agglutinationsvermögens bei den schwer rotzkranken oder genesenen Pferden zu erklären, habe ich eine neue Versuchsreihe ausgeführt, die nur in den Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth über die Hämolysine und über die cytolytischen Seris ihre Analogie findet. Zuerst wollte ich nachweisen, ob die Erwärmung auf 52—55° und auf 55—62° dem Serum des gesunden oder rotzkranken Pferdes die Agglutinationskraft gegenüber dem Rotzbacillus raubt und ob ein solches Serum durch Zusatz neuer, von anderen gesunden Tieren derselben oder anderer Species herstammenden Komplementen seine agglutinierende Eigenschaft wieder aktivieren kann.

---

[1]) **Ehrlich** und **Morgenroth**, Berl. klin. Wochenschr. Mitteilungen I. und II. 1899. No. 1 und 22. Mitteilung III. 1900. No. 31.)

An zweiter Stelle wollte ich versuchen, ob der Zusatz solcher neuer homogener oder heterogener Komplemente an sich selbst genügt, die Agglutinationskraft eines nicht erwärmten Serums von gegenüber Rotz empfindlichen oder rotzkranken Tieren zu erhöhen.

Es wurden verschiedene Sera erwärmt und zwar das von einem gesunden und zwei rotzverdächtigen und einem schwerkranken Pferde, außerdem Meerschweinchen- und Katzensera.

Ich kam zu dem Ergebnisse, daß eine stundenlange Erwärmung auf 52—54° nicht hinreichend ist, die Agglutinationsfähigkeit des Serums gänzlich aufzuheben und dieselbe nur stark abzuschwächen vermag, z. B. beim Pferde von 1 : 500 auf 1 : 115.

Die eine Stunde dauernde Erwärmung auf 60—65° nimmt dagegen dem Serum jede Agglutinationskraft. Das beweist die Gegenwart von durch Erwärmung auf 52—54° unzerstörbaren Komplementen, die nur durch eine Temperatur von 62—64° vernichtet werden.

Die Reaktivierung der Agglutinationsfähigkeit des erwärmten Serums versuchte ich bei 2 Pferden (Wallach „Gigante“ und Stute „Ceva“), die von mir auf der Nasenschleimhaut und durch die Verdauungswege vor langer Zeit infiziert worden waren und sich wieder erholt hatten. Das Serum jedes dieser Pferde war in kleinen Glasröhrchen in der Menge von 1 ccm verteilt. Drei dieser Eprouvetten wurden durch eine Stunde auf 62° erwärmt und dann wurden zu einer $^4/_{10}$ ccm Serum einer gesunden Katze zugegossen, zu der zweiten $^4/_{10}$ ccm Serum eines gesunden Mannes, zu der dritten $^4/_{10}$ ccm eines gesunden Pferdes. Die drei Mischungen wurden nach sorgfältigem Schütteln in einem Thermostaten auf 35° durch eine Stunde gehalten. Dann nahm ich mit diesen drei Mischungen zahlreiche Agglutinationsprüfungen im hängenden Tropfen vor.

Aus diesen Prüfungen ging klar hervor, daß der Zusatz von heterogenem Serum (Menschen- und Katzenserum) die durch die Erwärmung auf 62° gänzlich verloren gegangene Agglutinationskraft des Pferdeserums gegenüber dem Rotzbacillus vollständig reaktiviert. Das Katzenserum reaktiviert das Agglutinationsvermögen besser als das Menschenserum, während das Serum gesunder Pferde die Agglutinationskraft ungefähr auf die des Menschen erhöht.

Aehnliche Versuche, das Agglutinationsvermögen des Blutserums zu erhöhen, habe ich auch mit nicht erwärmten Seris derselben Pferde ausgeführt, um zu sehen, ob die Verminderung der Agglutinationskraft des Serums dieser augenscheinlich vom Rotz genesenen Pferde von einem unzureichenden Gehalte wirksamer Komplemente abhinge, da die vorhandenen an die Antikomplemente gebunden waren. Durch diese Versuchsreihe konnte ich bestätigen, daß der Zusatz von $^4/_{10}$ ccm gesunden Katzen-, Menschen- oder Pferdeserums zu 1 ccm des zu prüfenden Serums die Agglutinationskraft verstärkt. Auch hierbei verstärkt das Serum gesunder Katzen in größerem Maße als dasjenige gesunder Menschen und Pferde. In der Tat wurde bei der Stute „Ceva“ die Agglutinationskraft des nicht erwärmten Serums durch Zusatz von Katzenserum von 1 : 500 auf 1 : 828, durch Zusatz von normalem Menschenserum auf 1 : 800 und durch Zusatz von Serum gesunder Pferde auf 1 : 690—1 : 700 erhöht. — Beim Wallach „Gigante“ waren die erhaltenen Resultate weniger auffällig, immer aber beweisend, da die Agglutinationskraft des nicht erwärmten Serums von 1 : 460 durch Zusatz des Katzenkomplements auf 1 : 690 und durch Zusatz von normalen Menschen- und Pferdekomplementen auf 1 : 600 stieg.

Auf Grund dieser Versuche kann man also die von mir aufgestellte Hypothese als wahrscheinlich oder als glaubwürdig annehmen, daß die Verminderung der Agglutinationskraft des Serums bei rotzkranken oder von einer Rotzinfektion genesenen Pferden von einem Mangel an wirksamen freien Komplementen abhängt, da die vorhandenen Komplemente an die Antikomplemente gebunden sind, die im Krankheitsverlaufe sich neben den Agglutininen gebildet haben.

Mit der Demonstration dieser Tatsache der Verminderung der Agglutinationskraft des Blutserums bei schwer rotzkranken Pferden wird der Serodiagnose ihr Wert nicht genommen, die so viele wichtige Resultate nicht nur bei Untersuchung der Pferde, mit denen man täglich zu tun hat, sondern auch bei solchen, bei denen wegen ihres wilden Zustandes weder die Malleïnisation noch das Thermometer angewendet werden kann, zu geben im stande ist.

Man kann dann nur vermuten, daß in einigen Fällen versteckten oder sehr ausgesprochenen Rotzes Umstände eintreten, die die Wertbestimmung der agglutinierenden Kraft des Blutserums erschweren, da diese Kraft zu gewissen Zeiten wie paralysiert sein kann. Wenn also die serodiagnostische Reaktion positiv, wenn auch schwach, ist, d. h. nur wenig höher als das Normale (= 1 : 115, bis 1 : 170, bis 1 : 200, bis 1 : 230), so behält sie immer ihre Wichtigkeit zur Erkennung der Krankheit. Wenn eine solche positive Reaktion sich bei rotzverdächtigen Pferden äußert, von denen man den Krankheitsverlauf weder vom Standpunkte der Malleïnreaktion noch von demjenigen der agglutinierenden Reaktion verfolgen konnte, ist es gestattet, zu vermuten, daß das Agglutinationsvermögen aus den obengenannten Gründen vermindert sei. In diesen Fällen hätte also die schwache serodiagnostische Reaktion nur einen relativen Wert.

Eine Frage, die man aufwerfen könnte und die ich nicht zu lösen versuchte, ist die, ob das soeben erwähnte Phänomen der Abnahme der Agglutinationskraft des Blutserums nur in den experimentell mit Rotzkulturen hervorgerufenen Infektionen zutage tritt, während dies nicht statthat bei den spontanen Ansteckungen, wo der Rotzbacillus oft mit anderen, auf der Nasenschleimhaut sich befindenden pyogenen Mikrophyten und Saprophyten (Staphylokokken und Bakterien) zusammen vorkommt, deren Gegenwart der Bildung jener Antikörper, d. h. der die Wirkung der Agglutinine hindernden Antikomplemente, nicht sehr zuträglich ist

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Auch abgesehen von diesen Betrachtungen, bleibt für die Rotzdiagnose die Zunahme des Agglutinationsvermögens des Serums während der Malleïnisation doch immer von unbestreitbarem Werte.

Von diesem Standpunkte aus kann die Serodiagnose die Resultate der Malleïnprüfung vervollständigen, d. h. sie kann der Bedeutung der Malleïnreaktion, wenn diese auch von der Hyperthermie nicht besonders charakterisiert ist, sondern sich auf die sogenannte organische Reaktion beschränkt, viel größere Sicherheit geben.

Da also der diagnostische Wert der Malleïnreaktion bekanntlich nicht absolut ist, kann das mit dieser Reaktion gleichzeitige Auffinden einer wenn auch vorübergehenden Zunahme des Agglutinationsvermögens des Blutes dem Befunde der Malleïnisation einen sichereren Wert geben.

Beziehungen zwischen dem Agglutinationsvermögen und dem Präzipitingehalt im Blute rotzkranker Tiere.

Als Anhang zu meinen Versuchen über die Schwankungen der Agglutinationskraft des Blutserums während der Rotzkrankheit wollte ich das Verhalten des Serums verschiedener rotzkranker Tiere gegenüber ihrem Gehalt an Präzipitinen, im Vergleich zu gesunden derselben Species, oder von anderen, gegen die Krankheit empfindlichen Arten, studieren. Die von mir bei diesen Versuchen verfolgte Technik bestand im Zusammenbringen der präzipitierende Substanzen enthaltenden Sera mit verschiedenem Rotzmaterial, in dem präzipitable Substanzen sich hätten finden müssen.

Solches Material bestand sowohl aus wässerigen Glycerinemulsionen von durch lange Zeit bei niedrigen Temperaturen getrockneten und deswegen abgestorbenen Rotzkulturen, als auch aus wässerigen Glycerinemulsionen von frischem Gewebe (Milz, Leber, Lymphdrüsen, Blut) rotzkranker Katzen, oder schließlich aus durch Berkefeld-Kerze filtrierte Rotzbouillonkulturen. Um mich vor dem Verwechseln der sich auf Resten von lebenden oder toten, in den Emulsionen zurückgebliebenen Rotzbacillen bildenden Agglutinationsprodukte mit echten Präzipitinen sicherzustellen, hielt ich es, obwohl die Zellelemente oder die Bakterien in einem Mörser mit feinem, sterilem Glassande aufs feinste zerrieben wurden, bevor man sie mittels der wässerigen Glycerinlösung extrahierte, und zwar, um die Verwechslung der in der plasmatischen, zur Prüfung dienenden Flüssigkeit gebildeten Sedimente oder der agglutinierten Konglomerate mit den echten spezifischen Niederschlägen zu vermeiden, für notwendig, nur mit ganz bakterienfreien Emulsionen zu arbeiten. Es gelang mir, mittels Filtrierung durch Berkefeld-Kerze viel besser und sicherer als durch lange Zentrifugierung, die Flüssigkeit, an der ich die Präzipitation studieren wollte, auch von den feinsten Fragmenten der Rotzbacillen zu befreien, die möglicherweise in den wässerigen Glycerinemulsionen enthalten waren.

In einer ersten Versuchsreihe brachte ich Sera von gesunden, von rotzkranken und rotzverdächtigen Pferden, außerdem von gesunden und rotzkranken Katzen und Menschen mit den wässerigen Glycerinemulsionen von im Mörser mit sterilem Glassand fein zerriebenem Agarrotzkulturbrei zusammen. Diese Emulsionen wurden vorher mittels wiederholter und langdauernder Zentrifugierung geklärt und schließlich durch Berkefeld-Kerze filtriert. Das so erhaltene Filtrat war höchst klar

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

und hatte seine präzipitablen Substanzen gut bewahrt. In diesem ganz bakterienfreien Filtrate waren — fein emulsioniert und wahrscheinlich teilweise gelöst — nur die Proteïne der Rotzbacillen enthalten.

Eine geringe Menge dieses Filtrates (2 ccm) wurde in kleine, sterile Glasröhrchen verteilt und dann tropfte ich in diese je 0,25, 0,30 und 0,50 ccm Serum gesunder oder rotzkranker Pferde, Katzen oder Meerschweinchen hinein. Die erhaltenen Resultate waren immer übereinstimmend und zeigten, daß die Sera der verschiedenen gesunden oder kranken Tiere, sowohl derselben als anderer Art, bezüglich des Gehaltes der präzipitablen Substanzen in bestimmten Plasmen sich verschieden verhalten. In der Tat erzeugt das Serum gesunder Katzen und Pferde in den Emulsionen oder in den zentrifugierten und filtrierten, aus frischen oder aus bei niedrigen Temperaturen getrockneten Rotzkulturen hergestellten Plasmen, wobei, wie zu vermuten war, der Gehalt präzipitabler Substanzen gewiß nicht fehlen konnte, einen spärlichen Niederschlag, wenn auch das Serum im Verhältnis von 1 : 7 bis 1 : 6 zugesetzt war.

Das Serum rotzkranker Katzen verhält sich nicht immer in gleicher Weise. Einige schwer rotzkranke Katzen, die am 6. oder am 7. Krankheitstage getötet wurden, besaßen ein Serum, das Niederschläge im Verhältnis von 1 : 7 bis 1 : 10 gab; andere dagegen im gleichen Krankheitszustande gaben Niederschläge nur in Verdünnungen von 1 : 5, d. h. wie gesunde Katzen. Auch das Serum gesunder und rotzverdächtiger Pferde verhielt sich ungefähr in gleicher Weise, d. h. es bestand kein uniformes Verhalten bezüglich des Präzipitingehaltes in den wässerigen Glycerinemulsionen vom Rotzbacillus. Wahrscheinlich hing das von einem verschiedenen Gehalt präzipitabler Substanzen in den verschiedenen hergestellten Plasmen ab oder von einem variablen Präzipitingehalt in dem geprüften Serum. Das Serum eines rotzkranken Pferdes zeigte einen etwas höheren Präzipitingehalt im Verhältnis von 1 : 12.

Analoge Resultate erhielt ich aus den Versuchen, die mit Plasmen vorgenommen wurden, welche aus frischer, eine ziemliche Menge Rotzbacillen enthaltender Milz einer rotzkranken Katze hergestellt waren, doch waren sie noch positiver beim rotzkranken oder rotzverdächtigen Pferde als bei der Katze.

Das Serum rotzkranker oder verdächtiger Pferde erzeugte tatsächlich in dem Milzplasma einer rotzkranken Katze einen reichlichen Niederschlag im Verhältnis von 1 : 8 bis 1 : 12, der schon nach 5 bis 6 Stunden nach Zusatz des Serums sich zu bilden anfing und nach 22 bis 24 Stunden zunahm. Das Serum gesunder Pferde erzeugt in diesem Verhältnis nur einen kaum merkbaren Niederschlag.

Eine andere Versuchsreihe führte ich zuletzt aus, um in den sterilen Filtraten der Rotzbouillonkulturen den Gehalt an präzipitablen Substanzen zu prüfen. Die durch die Berkefeldsche Kerze filtrierte, ganz klare und bakterienfreie Flüssigkeit wurde in kleinen Glaseprouvetten zu je 2 ccm verteilt. Auf diese kleine Menge Filtrats ließ ich das Serum verschiedener gesunder, rotzkranker oder verdächtiger Tiere (Pferde, Katzen, Meerschweinchen) wirken. Das Verhalten des Serums dieser Tiere auf ein solches Kulturfiltrat zeigte sich immer verschieden gegen das Verhalten desselben Serums gegenüber Flüssigkeiten, die viel mehr Proteïne als Toxine enthielten. — Der Unterschied besteht, wie aus meinen zahlreichen Versuchen hervorgeht, in einem fast absoluten Mangel an präzipitablen Substanzen (präzipitinogene Substanzen von

Kraus) in den Kulturfiltraten des Rotzbacillus. — In der Tat gab das Serum einer rotzkranken Katze im Filtrat von Rotzbouillonkulturen im Verhältnis von 1 : 7, 1 : 5 und 1 : 4 keinen Niederschlag. Ebenfalls gaben die Sera eines gesunden, auf Malleïn nicht reagierenden Pferdes (Wallach „Centro“) und diejenigen anderer rotzkranker und verdächtiger, eine thermische und organische Malleïnreaktion und einen starken Agglutiningehalt zeigender Pferde keinen Niederschlag in dem Filtrat von Rotzbouillonkulturen, wenn sie im Verhältnis von 1 : 7, 1 : 5 und 1 : 4 eingetröpfelt worden waren. Dasselbe Resultat erhielt ich durch Versuche mit dem Serum gesunder und rotzkranker Meerschweinchen.

Wenn man bedenkt, daß dieselben, von gesunden und rotzkranken Tieren herstammenden Sera, die keinen Niederschlag in den Rotzbacillenkulturfiltraten gaben, in den Filtraten dagegen von wässerigen Glycerinemulsionen aus frischen oder alten, getrockneten, fein mit Glassand zerriebenen Kulturen einen, wenn auch spärlichen, Niederschlag hervorriefen, kann man schließen, daß in den Rotzbouillon-Kulturfiltraten, in denen nur Toxine und keine Rotzproteïne enthalten sind, auch keine durch das Serum rotzkranker Tiere präzipitablen Substanzen vorkommen, welche dagegen in dem Proteïne enthaltenden Filtrate nachweisbar sind. Das beweist, daß die präzipitablen Substanzen an die Rotzproteïne und vielleicht auch an die Globuline der Zellelemente der von den Rotzbacillen eingenommenen Gewebe gebunden sind. Die in den Seris enthaltenen präzipitierenden Substanzen hingegen, d. h. die echten Präzipitine von Kraus, die, wie bekannt, als spezifische Antikörper oder Produkte des organischen Schutzes angesehen werden können, finden sich gewöhnlich in spärlicher Menge im Pferdeserum oder im Serum anderer rotzempfindlicher Tiere, und nehmen während der Rotzkrankheit nicht viel zu.

Dieses Resultat meiner Beobachtungen stimmt nur teilweise mit demjenigen Wladimiroffs[1]) überein, der behauptet, daß kein Rotzpräzipitin im Blute des gesunden Pferdes enthalten sei und daß dieselben nur während der Rotzinfektion sich bilden. Auch im Serum normaler Pferde sind Präzipitine, wenn auch in spärlicher Menge, nachweisbar, die jedoch während der Rotzinfektion sich vermehren.

Der Grund des Unterschiedes zwischen meinen Resultaten und denjenigen Wladimiroffs dürfte meines Erachtens in der verschiedenen Herstellungsweise der zu prüfenden Flüssigkeiten oder der zelligen und bacillären Plasmen zu suchen sein. Um auf Grund derselben Kriterien richtig urteilen zu können, wäre es nötig, eine in derselben Weise hergestellte Testflüssigkeit in Händen zu haben.

Wenn die Präzipitinprüfung auf Filtraten von Rotzbouillonkulturen ausgeführt wird, so gibt sie aus den obengenannten Gründen immer negative Resultate. Nicht so leicht gelingt es dagegen, die Ursache zu finden, weswegen die Präzipitine wie die Agglutinine im Serum rotzkranker oder verdächtiger Pferde sich nicht vermehren und warum ihr Gehalt im Serum kleiner, gegen Rotz empfindlicher Tiere (Meerschweinchen und Katzen) so unbeständig sei.

Wahrscheinlich hängt das von dem Umstande ab, daß diese Präzipitine, d. h. diese Antikörper, aus Rezeptoren bestehen, die noch an das Zellprotoplasma, wo sie sich gebildet haben, gebunden bleiben und daher nur in sehr spärlicher Menge ins Blut übertreten.

---

1) Wladimiroff, Ueber Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkulturen. (Recueil de méd. vétér. 1900.)

Um zu entscheiden, ob dies sich wirklich so verhält oder ob es sich dagegen um eine nicht hinreichende Bildung solcher Antikörper handelt, sind noch weitere Versuche nötig, die Gegenstand einer späteren Mitteilung sein können. Jetzt genügt es, hervorzuheben, daß diese Antikörperart, d. h. die Präzipitine, sich ganz anders als die Agglutinine verhalten. Während in der Tat bei einigen rotzkranken Tieren, wie bei den Pferden, der Agglutiningehalt des Blutes sich sehr, und zwar bis zum Verhältnis von 1 : 1300, erhöhen kann, nimmt doch der Präzipitingehalt nicht in entsprechender Weise zu, d. h. er steigt nur bis zu einem Maximum von 1 : 12.

Die Resultate meiner zahlreichen Untersuchungen während des Verlaufes der experimentellen Rotzinfektion stehen, soweit sie die Einhufer betreffen, in Uebereinstimmung mit denjenigen Van de Veldes[1]) bezüglich des Agglutinin- und Präzipitingehaltes im Serum von gegen den Typhusbacillus immunisierter Pferde. In der Tat gelang es Van de Velde, von einem Pferde ein Immunserum zu erhalten, das den Typhusbacillus in der Verdünnung von 1 : 100000 agglutinierte, während es eine spärliche Präzipitinmenge enthielt und zwar im Verhältnis von 1 : 10 bis 1 : 40.

Bei den gegen Rotz sehr empfindlichen Katzen und Meerschweinchen ist dieser Kontrast nicht vorhanden, oder er ist viel weniger auffällig. Beim Menschen ist meines Wissens nichts in dieser Beziehung beobachtet worden.

Schlußbemerkungen.

Wenn man nun die aus meinen Untersuchungen über die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutserums bei Einhufern, bei Katzen und bei Meerschweinchen, sowohl im normalen Zustande wie auch während der Rotzkrankheit sich ergebenden Resultate zusammenfaßt, kann man folgende Hauptsätze aufstellen:

1) Das Blutserum der Pferde und Esel zeigt sowohl während der experimentellen Rotzinfektion als auch während der artifiziellen Immunisierung gegen den Rotzbacillus eine bedeutende Zunahme des Agglutiningehaltes. Diese Vermehrung steht in keinem Verhältnis zur Stärke der Infektion und scheint rascher hervorzutreten, wenn die Impfung des Rotzbacillus durch die verwundete Nasenschleimhaut, als wenn sie durch die normalen Verdauungswege geschehen ist.

2) Während der Malleïnreaktion erhöht sich die Agglutinationskraft des Blutes rotzkranker Pferde. Diese Erhöhung, die hohe Grade erreichen kann, ist jedoch vorübergehend. — Sie steht in keinem Verhältnisse zur Stärke der durch die Malleïnisation verursachten thermischen Reaktion, sie ist aber immer von organischer Reaktion und von ödematöser Schwellung an der Injektionsstelle begleitet.

3) Bei den auf Malleïn nicht mehr reagierenden und nur eine mehr oder minder ausgeprägte organische Reaktion gebenden Pferden kommt während der Malleïnisation eine beträchtliche Zunahme der Agglutinationskraft des Blutserums zur Erscheinung. Dieser Erhöhung der agglutinierenden Eigenschaften muß man einen bedeutenden Wert für die Diagnose einiger verdächtiger Rotzformen zuschreiben.

4) Das Verhalten des Blutserums bezüglich seiner agglutinierenden

---

[1]) Van de Velde, Bull. de l'acad. royal de méd. Belge. 1897. — Zitiert von Paltauf in seinem Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1904.

Eigenschaften gegenüber dem Rotzbacillus zeigt viele Analogieen mit dem Verhalten des ganzen Organismus gegenüber der Malleïnvergiftung. Gleich wie bei dieser, kann in der Tat der Agglutiningehalt bedeutende Schwankungen zeigen und bis zum normalen Grade sich abschwächen, obwohl das Pferd rotzkrank bleibt.

Diese Verminderung des Agglutinationsvermögens des Blutserums von zweifellos rotzkranken Pferden kann man durch Bildung anderer Arten von Antikörpern außer den Agglutininen, das ist durch die Antikomplemente, erklären, die durch Bindung der normalen Komplemente das Phänomen der Agglutination verhindern. Diese Behauptung gründet sich auf das Resultat der gelungenen Reaktivierungsversuche, die durch Zusatz von Seris gesunder Pferde, Katzen und Menschen erfolgte.

5) Die auf 52—55° während einer Stunde vorgenommene Erwärmung zerstört die Agglutinationskraft des Serums rotzkranker Tiere (Pferde, Katzen, Meerschweinchen) nicht gänzlich. Die Erwärmung durch eine Stunde auf 62—65° zerstört sie vollständig.

Die Agglutinationskraft stellt sich wieder ein, wenn man dem durch Hitze unwirksam gemachten Serum normale Sera anderer Tiere im Verhältnis von 1 : 2 bis 1 : 3 zusetzt. Die Komplemente des normalen Katzenserums reaktivieren viel besser als diejenigen des normalen Menschenserums die Agglutinationskraft des erwärmten Pferdeserums. Die Meerschweinchenkomplemente verhalten sich ungefähr wie diejenigen des Menschen.

6) Die Agglutinine finden sich immer in größerer Menge als die Präzipitine im Serum rotzkranker Pferde, Katzen und Meerschweinchen. Die Filtrate der Rotzbouillonkulturen enthalten keine durch Serum präzipitablen Substanzen oder doch nur in ganz geringer, kaum wahrnehmbarer Menge. Größerer Gehalt an präzipitablen Substanzen findet sich dagegen in dem aus frischen Organen (Milz) hergestellten Plasma rotzkranker Katzen und in wässerigen Glycerinextrakten aus frischen oder getrockneten Agarrotzkulturen. — Dieser Unterschied erklärt sich durch die Annahme, daß im Filtrate von Rotzbouillonkulturen nur die löslichen Toxine des Rotzbacillus und nicht die Proteïne enthalten sind, die sich hingegen in größerer Menge im wässerigen Glycerinextrakt aus mit Glassand zerriebenen Rotzkulturen finden.

Padua, Februar 1905.

Nachdruck verboten.

Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat.

Von **G. Wesenberg**, Elberfeld.

(Schluß.)

Bacterium typhi.

Metakalin 0,34 Proz.: nach 5 Minuten unbeeinflußt, nach 7 1/2 Minuten abgetötet.

Metakalin 0,5 Proz.: innerhalb 2 1/2 Minuten abgetötet.

Lysol 0,5 Proz.: nach 15 Minuten unbeeinflußt, nach 20 Minuten abgetötet.

Nizolysol 0,5 Proz.: nach 7 1/2 Minuten unbeeinflußt, nach 10 Minuten abgetötet.

Metakalin 0,68 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.
Lysol 1 Proz.: nach $^1/_2$ Minute unbeeinflußt, nach 1 Minute abgetötet.
Nizolysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Bacterium aërogenes.

Metakalin 0,34 Proz.: nach 5 Minuten unbeeinflußt, nach 10 Minuten verlangsamtes Wachstum, nach 15 Minuten abgetötet.
Metakalin 0,5 Proz.: innerhalb $2^1/_2$ Minuten abgetötet.
Lysol 0,5 Proz.: nach 5 Minuten unbeeinflußt, nach 10 Minuten verlangsamtes Wachstum, nach 15 Minuten abgetötet.
Nizolysol 0,5 Proz.: nach 10 Minuten unbeeinflußt, nach 15 Minuten abgetötet.
Metakalin 0,68 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.
Metakalin 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.
Lysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.
Nizolysol 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.

Streptococcus scarlatinae.

(4-tägige Serum[1]-Bouillon[2]-Kulturen, Ueberimpfung ebenfalls in Serumbouillon. Der betreffende Stamm war unmittelbar vorher durch den Kaninchenkörper geschickt worden.)

Metakalin 0,34 Proz.: nach 3 und $5^8/_4$ Stunden verlangsamtes Wachstum, nach 8 Stunden abgetötet.
Metakalin 0,5 Proz.: nach 3 Minuten unbeeinflußt, nach 5 Minuten abgetötet.
Lysol 0,5 Proz.: nach 3 Stunden verlangsamtes Wachstum, nach $5^3/_4$ Stunden abgetötet.
Nizolysol 0,5 Proz.: nach 3 Stunden verlangsamtes Wachstum, nach $5^3/_4$ Stunden abgetötet.
Metakalin 0,68 Proz.: nach 1 Minute unbeeinflußt, nach 2 Minuten abgetötet.
Metakalin 1 Proz.: innerhalb $^1/_2$ Minute abgetötet.
Lysol 1 Proz.: nach $^1/_2$ Minute unbeeinflußt, nach 1 Minute abgetötet.
Nizolysol nach $^1/_2$ Minute unbeeinflußt, nach 1 Minute abgetötet.

Milzbrandsporen.

Zwei 8-tägige Milzbrand-Agarschrägkulturen, welche reichlich Sporen gebildet hatten, wurden mit 20 ccm sterilem Wasser abgeschlämmt; von der gleichmäßigen Mischung wurden je 5 ccm in sterilen Reagenzgläsern mit je 5 ccm 10-proz. Lysol- bezw. Nizolysollösung bezw. 6,8-proz. Metakalinlösung versetzt und während der Versuchszeit im Brutschrank gehalten; anfangs wurde je 1 Platinöse voll, später deren 2 bezw. 3, in Bouillon und Agar übertragen sowie gleichzeitig weiße Mäuse mit 1—3 Platinösen voll, welche in etwa 1 ccm steriler Bouillon verteilt wurden, subkutan injiziert. Nach 5 Tagen zeigten die Abimpfungen in Bouillon, welche bis dahin gut gewachsen waren, keine Vermehrung; nach 8 bezw. 12 Tagen blieben auch die bis dahin immer gut bewachsenen Agarplatten steril, während sämtliche Mäuse, wie die Kontrollmaus, in etwa 48 Stunden eingingen. Nach 19 Tagen blieb die Nizolysolmaus am Leben, die gleichzeitig geimpften Metakalin- und Lysolmäuse gingen aber noch mit geringer Verzögerung ein. Die nach 26 Tagen gespritzte Metakalinmaus bleibt ebenso wie die Nizolysolmaus am Leben, während die Lysolmaus, wenn auch sehr verspätet, noch eingeht. Bei der letzten Impfung nach

33 Tagen bleiben alle 3 Mäuse am Leben. Die Reihenfolge ist also in diesem Versuche: Nizolysol, Metakalin und schließlich Lysol.

Dieser Versuch lehrt gleichzeitig noch, daß zum Nachweis von — sei es durch Desinfektionsmittel, sei es durch Fäulnis oder dergl. — geschwächten Milzbrandbacillen bezw. Sporen stets die Impfung von Mäusen außer dem Anlegen von Bouillon- und Agarkulturen unbedingt erforderlich ist, worauf u. a. Lange[1]), C. Fränkel[2]) und Gottstein[3]) hingewiesen haben.

Ueberblicken wir nun diese vergleichenden Desinfektionsversuche, so ergibt sich, daß, auf gleichen Kresolgehalt bezogen, das Metakalin dem Lysol und auch dem Nizolysol — welch letzteres allerdings mitunter etwas besser als das Lysol wirkte — als völlig gleichwertig zu bezeichnen ist; allerdings verhalten sich die einzelnen Mikroorganismen gegenüber diesen 3 Substanzen auch etwas verschieden. Obwohl das Metakalin durch den geringeren Seifengehalt von vornherein ungünstiger gestellt ist als das Lysol, hat doch die stärkere Desinfektionswirkung, welche das Metakresol vor dem Rohkresol besitzt, diese Differenz völlig auszugleichen vermocht. Die 0,5-proz. Metakalinlösung zeigte in allen Fällen eine dem 0,5-proz. Lysol und Nizolysol bedeutend überlegene Wirkung; die 0,5-proz. Metakalinlösung gebraucht kaum mehr Zeit zur völligen Vernichtung der geprüften Bakterien als die 0,68-proz. Metakalinlösung, welche sich ihrerseits als völlig gleichwertig mit den 1-proz. Lysol- bezw. Nizolysollösungen erwies. Wir finden hier wieder die Beobachtung, welche bisher wohl bei allen Kresolpräparaten gemacht wurde, bestätigt, daß nämlich mit der Verdünnung der Lösungen ihr Desinfektionswert unverhältnismäßig rasch heruntergeht; die gleich noch zu berichtenden Versuche über die entwickelungshemmende Kraft unserer Präparate werden uns hierfür einen weiteren Beweis erbringen. Auch die verhältnismäßig sehr geringe Wirkung der 5- bezw. 3,4-proz. Lösungen gegenüber Milzbrandsporen teilt das Metakalin nicht nur mit dem Lysol, sondern mit allen anderen Kresolpräparaten.

Zur Feststellung der entwickelungshemmenden Kraft unserer 3 Antiseptica wurden je 10 ccm sterile Bouillon mit steigenden Mengen 5-proz. Lysol-, 5-proz. Nizolysol- und 3,4-proz. Metakalinlösung versetzt, darauf aus einer Pipette je 1 Tröpfchen der Bakterienbouillonkultur hinzugegeben und 16 Tage lang im Brutschrank gehalten. In der Tabelle bedeuten: +++ unbeeinflußtes Wachstum, ++ etwas verlangsamtes Wachstum, + sehr verlangsamtes Wachstum, — kein Wachstum.

---

1) Lange, L., Zur Milzbrandinfektion des Menschen. (Hyg. Rundschau. 1901. p. 481.)

2) Fränkel, C., Zum Nachweis der Milzbrandbacillen. (Hyg. Rundschau. 1901. p. 633.)

3) Gottstein, E., Ein Beitrag zur Milzbranddiagnose. (Hyg. Rundschau. 1902. p. 1185).

Kresolgehalt	Lysol		Nizolysol		Metakalin	
			Bacterium pyocyaneum.			
1:600	1:300	—	1:300	—	1:442	—
1:900	1:450	—	1:450	—	1:663	—
1:1200	1:600	+++	1:600	+++	1:884	+++
1:1600	1:800	+++	1:800	+++	1:1180	+++
1:2000	1:1000	+++	1:1000	+++	1:1470	+++
1:2400	1:1200	+++	1:1200	+++	1:1770	+++
			Staphylococcus aureus.			
1:600, 900, 1200		—		—		—
1:1600		+		+		++
1:2000		++		++		++
1:2400		+++		+++		+++
			Bacterium typhi.			
1:600, 900, 1200		—		—		—
1:800		+		+		+
1:2000		+++		+++		++
1:2400		+++		+++		+++
			Bacterium aërogenes.			
1:600, 900, 1200		—		—		—
1:1600, 2000, 2400		++		++		++

Auch in diesen Versuchen sind also die 3 Präparate, auf gleichen Kresolgehalt berechnet, einander vollkommen gleichwertig, während, auf absolutes Verhältnis berechnet, das Metakalin natürlich eine $1^1/_2$mal so große entwickelungshemmende Wirkung besitzt, als das Lysol und Nizolysol. Die entwickelungshemmende Konzentration der von mir geprüften Kresolpräparate liegt (mit — wieder auf Kresol bezogen — 1 : 900 beim Pyocyaneus, mit 1 : 1200 bei den anderen Bakterien) verhältnismäßig sehr nahe an der Konzentration (1 : 400), welche noch in relativ kurzer Zeit eine Abtötung der Bakterien verursacht hat; die gleiche Beobachtung ist auch bei allen bisherigen diesbezüglichen Untersuchungen von Kresolpräparaten gemacht worden.

Außer der Desinfektionswirkung ist bei den Wundantisepticis noch die Frage der Giftigkeit eine sehr wesentliche; früher wurde schon kurz erwähnt, daß von den 3 isomeren Kresolen das Metakresol das am wenigsten giftige sei; die ausführlichste diesbezügliche Mitteilung, welche mir zugänglich ist, stammt von Meili[1]); derselbe ermittelte für Kaninchen (bei subkutaner Injektion unter Benutzung von flüssigem Paraffin als Lösungsmittel) folgende tödliche Dosen:

Metakresol	0,5	g pro kg
Phenol	0,5	„ „ „
Orthokresol	0,45	„ „ „
Parakresol	0,3	„ „ „

Auf Grund des Gesamtvergiftungsbildes bezeichnet Meili das Metakresol als das am wenigsten giftige, dann folgen mit zunehmender Giftigkeit das Phenol, das Orthokresol und am giftigsten das Parakresol.

Schütz[2]) erklärt das Metakresol für relativ ungiftig, da er mit

---

[1]) Meili, W., Vergleichende Bestimmung der Giftigkeit der 3 isomeren Kresole und des Phenols. [Inaug.-Diss.] Bern 1891.

[2]) Schütz, H., Vergleichende Untersuchungen über einige Kresolpräparate mit besonderer Berücksichtigung des Metakresols. [Inaug.-Diss.] Halle 1896. (Auch Hyg. Rundsch. 1896.)

0,75 g desselben pro Kilogramm Kaninchen nicht zu töten vermochte, während er die tödliche Dosis für Karbolsäure zu 0,3 g pro Kilogramm ermittelte.

Auch Seybold (l. c.) konnte Meerschweinchen bei subkutaner Injektion wässeriger Lösungen mit 0,75 g pro Kilogramm Ortho- bezw. Metakresol nicht töten, wobei aber das Metakresol bedeutend geringere Krankheitserscheinungen verursachte, als das Orthokresol; das Parakresol dagegen wirkte schon bei 0,5 g pro Kilogramm tödlich.

Aus allerjüngster Zeit (während der Niederschrift dieser Abhandlung) fand ich noch eine umfangreiche, die Giftigkeit der Kresole und des Liquor Cresoli saponatus behandelnde Arbeit von Tollens[1]), welcher für Katzen, Mäuse und Frösche folgende tödliche Dosen in Gramm Substanz pro 1 kg Körpergewicht bei subkutaner Applikation ermittelte:

		Katzen	Mäuse	Frösche
Karbolsäure		0,09	0,35	0,1
Kresol p-		0,08	0,15	0,15
„ o-		0,09	0,35	0,20
„ m-		0,12	0,45	0,25
karbolsaures Natron (auf Karbolgehalt bez.)		—	0,35	0,1
kresolsaures Natron p-	auf gleichen Kresolgehalt bezogen	—	0,15	0,15
„ „ o-		—	0,35	0,2
„ „ m-		—	0,45	0,25
Kresol crud. I		—	0,35	0,2
„ „ II		—	0,25	0,2
„ „ III		—	0,2	0,2
Liq. Cresoli sapon. I	auf Kresolgehalt bezogen	—	0,3	0,15
„ „ „ II		—	0,25	0,15
„ „ „ III		—	0,2	0,15

Es ist also auch hier wieder das Metakresol, welches die geringste Giftigkeit gegenüber den Versuchstieren zeigt, dann folgt bei den Warmblütern das Phenol und als etwa gleichwirksam das Orthokresol, während am giftigsten das Parakresol ist. Die Natronsalze entsprechen in ihrer Giftigkeit vollkommen der entsprechenden Kresolmenge, ebenso die Kresolseifenlösungen diesbezüglich den dazu verwendeten Kresolen; besonders bemerkenswert ist, daß die 3 Rohkresole und dementsprechend auch die daraus hergestellten Kresolseifenlösungen derartig verschiedene Giftigkeit besitzen — 0,2, 0,25 0,3 g pro Kilogramm Maus — daß diese bei zweien der Präparate die der Karbolsäure nicht unerheblich übersteigt; treffender kann einerseits die Unzuverlässigkeit und schwankende Zusammensetzung der Rohkresole und der daraus hergestellten Kresolseifenlösungen, andererseits das Ungenügende der Untersuchungsvorschrift des D.A.B. IV. nicht gekennzeichnet werden, da diese 3 Rohkresole und die daraus hergestellten Kresolseifenlösungen allen Anforderungen des D.A.B. IV. gerecht wurden.

Es war nun noch die Frage von Interesse, wie sich die Giftigkeit des Metakalins im Vergleich zu derjenigen des Lysols verhält, da ja dieses letztere auch zu den vergleichenden Desinfektionsversuchen herangezogen worden war. Für diese Untersuchungen bediente ich mich der von Schwenkenbecher[2]) angegebenen Methode des Badens von weißen Mäusen, da mir dieses Verfahren der äußerlichen Applikation der Desinfizientien am nächsten zu kommen scheint. Den zu den Parallelversuchen benutzten weißen Mäusen von möglichst übereinstimmender Größe wurden je die Vorder- und Hinterbeine durch Kautschukheftpflasterstreifen zusammengehalten; dann wurde den so bewegungslos gemachten Tieren eine Halskrause umgelegt, welche aus nicht zu starker und daher gut biegsamer Pappe bestand; in der Mitte dieser war ein der Halsweite der Maus entsprechendes rundes Loch eingeschnitten, in welches durch einen einfachen Schlitz hindurch der Hals der Maus hineingebracht werden konnte; das Tier wurde dann in ein etwa 100 ccm faßendes Becherglas eingesenkt, wobei die den Hals umfassende Pappe dem Glasrande auflag und, nach dem Füllen des Glases mit der auf 36—37° angewärmten Badeflüssigkeit, mittels Heftpflasterstreifens am Glase fixiert werden konnte; das Becherglas stand seinerseits wieder in einer größeren Schale mit 36—38° warmem Wasser. Auf diese Weise konnten die Tiere ohne größere Quälerei beliebig lange gebadet werden; nach dem Herausnehmen wurden sie mit Fließpapier möglichst abgetrocknet und in Watte eingelegt, an einen etwa 30—35° warmen Ort gebracht, um Wärmeverlust nach Möglichkeit zu vermeiden. Nach den 5 Versuchen, welche Schwenkenbecher mit Lysol anstellte, gingen die Mäuse in 1-proz. Lösung nach etwa 1-stündigem Bade, in 0,5-proz. Lösung nach etwa 3, in 0,3-proz. nach etwa 4 Stunden unter Krämpfen ein, während 0,1 Proz. Lysol 9 bezw. $9^{1}/_{2}$ Stunden vertragen wurde und der Tod erst später eintrat.

---

[1]) Tollens, K., Ueber die Wirkung der Kresole und des Liquor Cresoli saponatus im Vergleich zur Karbolsäure. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. LII. p. 220.)

[2]) Schwenkenbecher, A., Das Absorptionsvermögen der Haut. [Habilitat.-Schrift Tübingen.] Leipzig 1904.

Bei meinen Versuchen benutzte ich natürlich wieder auf gleichen Kresolgehalt umgerechnete Lösungen, so daß also einer Lösung von 0,1 Proz. Lysol eine 0,068-proz. Metakalinlösung entsprach. (Die nebeneinander stehenden Versuche mit Lysol und Metakalin wurden stets gleichzeitig ausgeführt.)

Lysol 0,1 Proz.	Metakalin 0,068 Proz.
2 Stunden gebadet; beim Herausnehmen starkes Zittern; nach 24 Std. noch schwere krampfartige Atmung; nach 48 Std. etwas besser; nach 4 Tagen normal.	2 Stunden gebadet; beim Herausnehmen starkes Zittern; nach 24 Std. fast ganz normal; nach 48 Std. normal.
Lysol 0,3 Proz.	**Metakalin 0,204 Proz.**
60 Minuten gebadet; während des Bades zuletzt starke Krämpfe, ebenso fortdauernd nach dem Herausnehmen bis zum Exitus nach insgesamt etwa 100 Min.	60 Minuten gebadet; zuletzt Krämpfe, ebenso wiederholt nach dem Herausnehmen, aber bedeutend schwächer als die Lysolmaus. Exitus nach insgesamt $2^{1}/_{2}$ bis 4 Std. (über Mittag).
Lysol 0,3 Proz.	**Metakalin 0,204 Proz.**
20 Minuten gebadet; während des Bades starkes Zittern; in Krämpfen herausgenommen, welche fortdauernd etwa 2 Std. anhalten; nach 24 Std. besteht noch schwere krampfartige Atmung; Tier erholt sich nicht, tot nach 3 Tagen.	20 Minuten gebadet; beim Herausnehmen Krämpfe, welche etwa 50 Min. anhalten, aber deutlich schwächer sind als bei der Lysolmaus: nach $2^{1}/_{2}$ Std. frißt; nach 24 Stunden wieder völlig normal.
Lysol 0,3 Proz.	**Metakalin 0,204 Proz.**
Nach 30 Minuten im Bade unter Krämpfen gestorben.	Nach 30 Minuten in schwachen Krämpfen herausgenommen; Krämpfe dauern mit längeren Unterbrechungen etwa 1 Std.; nach insgesamt 2 Std. wieder herumlaufend, nach 24 Std. völlig normal.
Lysol 0,3 Proz.	**Metakalin 0,204 Proz.**
Nach 30 Minuten in starken Krämpfen herausgenommen; ununterbrochene starke Krämpfe etwa 4 Std. lang; dann langsame Erholung; nach 4 Tagen noch immer nicht ganz normal.	30 Minuten gebadet; während des Bades und auch nachher vereinzelte schwache Krämpfe; nach insgesamt 60 Min. völlig krampffrei und gut erholt.

Lysol 0,3 Proz.	Metakalin 0,204 Proz.
Nach 40 Minuten in starken Krämpfen herausgenommen; ununterbrochene starke Krämpfe etwa 6 Std. lang; nachher allmähliche Erholung; über Nacht gest.	Nach 40 Minuten herausgenommen; im Bade und nachher, im ganzen etwa $1^1/_2$ Std. vereinzelte Krämpfe; nach insgesamt 5 Std. völlig krampffrei und ziemlich normal.

Zu diesen möglichst kurz gefaßten Protokollen ist noch zu bemerken, daß in allen Fällen die Krämpfe, welche Lysol hervorrief, heftiger waren, als die durch das Metakalinbad verursachten. Bei allen Lysolmäusen stellte sich außerdem während des Bades starke Augensekretion ein, welche bei den wiedergenesenden Tieren noch tagelang anhielt, während durch das Metakalin diese Reizwirkung nie hervorgerufen wurde; es liegt die Vermutung nahe, daß diese Erscheinung durch die im Lysol enthaltene Seife bedingt ist, welche bei der Temperatur des Bades flüchtige Bestandteile verdunsten läßt, worauf ja auch bereits der strenge Geruch der Lysollösungen (namentlich beim gelinden Erwärmen) hinweist. Zweifellos ergeben die eben angeführten Badeversuche eine nicht unbeträchtlich größere Giftigkeit des Lysols gegenüber dem Metakalin, da von den 6 Lysolmäusen nur 2 mit dem Leben davonkamen, während von den 6 Metakalinmäusen 5 am Leben blieben. In allen Fällen waren beim Metakalin die auftretenden Krämpfe viel schwächer und von geringerer Dauer als beim Lysol. Es hat sich also auch hier in der Form des Metakalins das Metakresol als weniger giftig erwiesen als das im Lysol vorhandene Rohkresolgemisch.

Des weiteren ausgeführte Versuche sollten feststellen, ob zwischen dem Metakalin und dem Lysol noch weitere Unterschiede bezgl. etwa vorhandener Reizwirkung beständen, da ja zu ihrer Herstellung verschiedenartige Seifen Verwendung finden.

Bei einem Selbstversuch, in welchem ich auf jeden Oberarm gleichgroße Kompressen, mit 5-proz. Lysol- bezw. 3,4-proz. Metakalinlösung getränkt, befestigte, machte sich auf dem Lysolarm anfangs ein deutliches Brennen bemerkbar, welches aber rasch verschwand, während das Metakalin nicht das geringste Brennen verursachte; bei der Abnahme des Verbandes zeigte sich gleichartige Rötung auf beiden Armen und geringe Maceration ohne erkennbaren Unterschied.

In das Menschenauge eingeträufelt, brennt 0,1 Proz. Lysol im Anfang stark, aber rasch vorübergehend; 0,068 Proz. Metakalin reizt anfangs nur schwach und vorübergehend; auch 0,05 Proz. Lysol reizt anfangs noch ziemlich stark, während die entsprechende Konzentration von 0,034 Proz. Metakalin so gut wie gar nicht mehr irritierend wirkt.

Zur Prüfung der Reizwirkung an der Froschpfote (am sogenannten „Reflexfrosch") wurde Fröschen das Gehirn durch einen Scherenschnitt unmittelbar hinter dem Kopf vom Rückenmark getrennt; die Hinterpfoten des danach an den Vorderpfoten aufgehängten Tieres wurden dann in die zu prüfenden Lösungen bis zum freiwilligen Herausziehen eingetaucht, danach mit Wasser gewaschen und frühestens nach 3 Minuten zum nächsten Versuch verwendet; die Lysol- und Metakalinlösungen kamen abwechselnd zur Prüfung; die Zeit, nach welcher Herausziehen der Pfote aus der Badeflüssigkeit erfolgte, ist in Sekunden angegeben.

Frosch	I	Lysol	10	Proz.	sofort						
„	I	„	2½	„	fast sofort						
„	I	„	1	„	4 Sek.	5 Sek.					
„	I	„	0,5	„	6 „	6½ „	Metakalin	0,34	Proz.	6½ Sek.	
„	II	„	1	„	1 „		„	0,68	„	1 „	
„	II	„	0,5	„	3 „		„	0,34	„	5 „	
„	II	„	0,25	„	5 „		„	0,17	„	8 „	
„	II	„	0,125	„	5 „	6 „	„	0,085	„	25 „	15 Sek.
„	II	„	0,1	„	12 „	12 „	„	0,068	„	15 „	13 „
„	II	„	0,05	„	30 „	45 „	„	0,034	„	27 „	45 „
„	III	„	0,1	„	15 „	20 „	„	0,068	„	25 „	26 „
„	IV	„	0,1	„	5 „	9 „	„	0,068	„	10 „	22 „

Nach diesen Versuchen kommt dem Metakalin jedenfalls keine größere, im Gegenteil wohl sogar eine etwas geringere Reizwirkung zu als dem Lysol.

Für die Aufbewahrung von Nähmaterial, Seide, Catgut, war noch die Frage von Interesse, ob durch längeres Einlegen derselben in Lysol bezw. Metakalin eine Verringerung der Haltbarkeit bezw. Festigkeit bedingt würde. Zur Prüfung dieser Frage wurden je 2 Lagen Seide, aus einem größeren Bündel stammend, in 5-proz. Lysol- bezw. 3,4-proz. Metakalinlösung eingelegt, während 2 Lagen trocken, als Kontrollproben, reserviert wurden. Nach 16 Tagen ebenso nach 12 Wochen wurde aus jeder Lösung eine Lage herausgenommen, mit lauwarmem Wasser gewaschen und dann an einem mäßig warmen Ort getrocknet; die Prüfung auf Reißfestigkeit geschah an einem „Serimeter“, wie derselbe in Färbereien gebräuchlich ist; eine ähnliche Einrichtung hat Stich[1]) beschrieben. Um Mittelwerte zu erhalten, wurden von jeder Probe 10 Bestimmungen gemacht, deren Zahlen in Gramm im folgenden angegeben sind; es zerriß:

Kontrollseide: 1530, 1900, 1800, 1280, 1650, 1600, 1950, 1800, 1700, 1200. Mittel: 1641 g.

Metakalinseide nach 16 Tagen: 1480, 1660, 1880, 1830, 1530, 1550, 1850, 1820, 1900, 1400. Mittel: 1725 g.

Lysolseide nach 16 Tagen: 780, 1580, 1570, 1850, 1650, 1600, 1540, 1230, 1600, 1520. Mittel: 1492 g.

Kontrollseide: 1600, 1330, 1660, 1570, 1770, 1850, 1570, 1750, 1520, 1600. Mittel: 1622 g.

Metakalinseide nach 12 Wochen: 1400, 1150, 1520, 1380, 1620, 1540, 1200, 1430, 1460. Mittel: 1402 g.

Lysolseide nach 12 Wochen: 1640, 1650, 1480, 1800, 1850, 1700 1820, 1660, 1620, 1530. Mittel: 1675 g.

Aus diesen Zahlen, denen wegen der Ungleichmäßigkeit des Materials eine gewisse Schwankung zugestanden werden muß, ergibt sich, daß weder Lysol noch Metakalin einen schädigenden Einfluß auf die Seide[2]) geäußert haben.

Fassen wir die Ergebnisse der vorliegenden Ausführungen zusammen, so kommen wir zu dem Schlusse, daß in dem Metakalin ein festes und daher leicht und genau dosierbares Kresolseifenpräparat von konstanter und verhältnismäßig einfach zu

---

[1]) Stich, C., Apparat zur Bestimmung der Zugfestigkeit von chirurgischem Nähmaterial. (Centralbl. f. Chirurg. Bd. XXV. 1898. p. 583.)

[2]) Catgut konnte diesbezüglich nicht geprüft werden, da das mir zur Verfügung stehende Serimeter nur bis 2 kg Belastung eingerichtet ist.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

kontrollierender[1]) Zusammensetzung vorliegt, dessen wirksamer Bestandteil das unter den Kresolen am wenigsten giftige, daher aber am stärksten desinfizierend wirkende Metakresol ist. Das Metakalin besitzt, bei fehlender Reizwirkung, eine große Desinfektionswirkung, indem es selbst noch in $^1/_2$-proz. Lösung alle geprüften, vegetativen, Mikroorganismen in wenigen Minuten abtötet, aber auch noch in etwa $^1/_3$-proz. Lösung eine gute Desinfektionskraft äußert; auf die Haut wirkt es, ebenso wie auf die Haltbarkeit der Nähseide, nicht schädigend ein.

Nachdruck verboten.

Expériences sur la valeur antiseptique du savon commun.

Remarques sur l'action des antiseptiques en général, et sur la biologie du staphylocoque pyogène.

Par **M. A. Rodet,**
Professeur de Microbiologie à l'Université de Montpellier.

Les différents auteurs qui se sont occupés de la valeur antiseptique du savon ont déduit de leurs observations des conclusions assez discordantes. La plupart attribuent au savon un réel pouvoir bactéricide, énergique d'après les uns, très médiocre pour les autres; par contre, quelques-uns, notamment Conradi[2]), refusent de reconnaître le savon comme un antiseptique.

Rien ne s'explique mieux que ce désaccord apparent. Les conditions d'expérimentation ont été très diverses: savons de composition chimique différente, de potasse ou de soude, plus ou moins riches en eau, avec ou sans alcali libre, températures différentes, microbes libres ou incorporés à des matières organiques, etc. D'autre part, les auteurs ne se sont pas placés au même point de vue, les uns visant la désinfection appliquée à des cas spéciaux (choléra), d'autres se proposant la destruction des germes même les plus résistants; les uns ayant en vue la désinfection des mains, d'autres celle des linges ou vêtements souillés. Enfin, le critérium de l'action bactéricide a varié, certains expérimentateurs se contentant de voir que le savon est capable de détruire des microbes, fût-ce à un titre élevé, pour lui reconnaître un pouvoir bactéricide;

---

1) Ueber die verhältnismäßig einfache chemische Untersuchung und Wertbestimmung des Metakalins habe ich inzwischen in der Pharmazeut. Ztg. 1905. No. 27. p. 280 Mitteilung gemacht. Hier sei nur kurz erwähnt, daß in unserem Falle die Kresolbestimmung mittels der bekannten — für die Phenolbestimmung ausgearbeiteten — Koppeschaarschen Bromadditionsmethode in einfachster Weise erfolgen kann, nachdem die Seife durch Zinksulfat ausgefällt ist; 1 Molekül Metakresol bindet glatt 1 Molekül Brom.

Die Identifizierung des vorliegenden Kresols als Metakresol und gleichzeitig auch dessen quantitative Bestimmung kann mit Hilfe der Methode von Raschig (Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1900. p. 759) geschehen; die dabei resultierende Mischung von Trinitro-m-Kresol und Fettsäuren kann von den letzteren leicht durch Waschen mit Petroläther befreit werden.

1) Conradi, Ueber die bakterizide Wirkung der Seifen. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIV. p. 101; anal. in Centralbl. f. Bakt. u. Par. Ref. Bd. XXXII. p. 409.) — Weitere Untersuchungen über die bakterizide Wirkung der Seifen. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. Orig. Bd. XXXVI. p. 151.)

d'autres (**Conradi**), beaucoup plus exigeants, demandant au savon d'être bactéricide en solutions très étendues, ou, en solutions fortes, de détruire en très peu de temps (5 minutes) des éléments très résistants (spores charbonneuses). Je fais abstraction de ce que nombre d'auteurs ont eu en vue l'utilité de l'adjonction de substances antiseptiques au savon, ce qui complique encore la question.

Mes expériences, entreprises à l'occasion d'essais sur un savon industriel dit antiseptique, et dans le but de comparer le pouvoir bactéricide de ce savon avec du savon pur, ont été faites avec du savon blanc de soude (savon de Marseille), privé d'alcali libre. Tous les essais ont porté sur 2 espèces, le staphylocoque et le bacille d'**Eberth**. Je suis parti de solutions à 5 et 1 p. 100. Dans les solutions à 5 p. 100, le savon était loin d'être complètement dissous, une bonne partie restait à l'état de mucilage, que l'on rendait facilement homogène par une forte agitation; le séjour à 37° les éclaicissait partiellement, en mettant en solution une partie du mucilage. Les solutions à 1 p. 100 étaient presque parfaites, même à 20°. J'ai recherché: 1°, le pouvoir empêchant; 2°, le pouvoir bactéricide.

I. Pouvoir empêchant. Le bouillon était additionné de quantités diverses de solutions savonneuses, ensemencé et mis à l'étuve; après un ou plusieurs jours d'étuve, on faisait l'examen microscopique ou des prélèvements que l'on portait sur agar.

Le staphylocoque a pullulé dans le bouillon additionné de $^2/_3$ de solution savonneuse à $\frac{1}{100}$, ce qui correspond à une teneur du mélange en substance savonneuse de 6,66 pour 1000; ainsi que dans du bouillon additionné de $^1/_6$ de solution à $\frac{5}{100}$ (teneur en savon: 8 pour 1000). Je n'ai pas fait d'essais à doses plus fortes. Les cultures sont plus lentes et plus pauvres dans ces milieux que dans du bouillon pur; des doses de savon même beaucoup plus faibles (0,2 à 0,3 pour 1000) suffisent à gêner la pullulation, et par conséquent exercent déjà une action dysgénésique.

Le bacille d'**Eberth** a pullulé dans du bouillon additionné de $^1/_3$ de solution savonneuse à $\frac{1}{100}$ (3,33 pour 1000 de savon); dans le mélange à $^1/_2$ (soit 5 pour 1000), il n'a pas pullulé, et est mort en moins de 48 heures; il est donc moins tolérant que le staphylocoque. Cependant, il a pullulé dans le bouillon contenant $^1/_6$ de solution à $\frac{5}{100}$ (soit 8 pour 1000).

Pour apprécier la valeur de ces résultats, de même que pour expliquer la discordance apparente observée avec le bacille d'**Eberth**, il faut bien remarquer que les mélanges de bouillon et de solutions savonneuses sont troublés, même avec 1 goutte de solution savonneuse à $\frac{5}{100}$ pour 10 ccm de bouillon. Le trouble est très considérable dans le cas de teneur élevée en savon (bouillon, 5 parties; solution de savon à $\frac{5}{100}$, 1 partie). D'après cela, il est extrêmement probable qu'il se passe quelque réaction chimique entre le savon et les principes constitutifs du bouillon, des décompositions ou des combinaisons nouvelles, des précipitations, et que par suite le savon ne se trouve pas en nature dissous dans le liquide au titre que l'on recherche. On s'explique ainsi que, tandis que des doses fortes se bornent à retarder et appauvrir la culture, des doses beaucoup plus faibles lui apportent déjà un obstacle notable, c'est-à-dire que la gamme des doses dysgénésiques soit très étendue; on comprend en effet que les fortes doses de savon ajoutées au bouillon subissent une altération relativement plus grande que les petites quantités, et que par suite l'action empêchante ne croisse pas en proportion de la quantité de savon que l'on ajoute au bouillon. Comme ces réactions chimiques entre le savon et les éléments du bouillon doivent dépendre de la quantité de ces derniers, on s'explique aussi que j'aie pu observer un effet empêchant moindre sur le bacille d'Eberth dans un milieu contenant $^1/_6$ de solution savonneuse à $\frac{5}{100}$ que dans le milieu renfermant $^1/_2$ de solution à $\frac{1}{100}$, moins riche en savon, mais aussi moins riche en bouillon.

S'il en est ainsi, il serait illusoire de demander quelle est la quantité de savon qui, ajoutée à un milieu nutritif, s'oppose à la culture de tel ou tel microbe: la limite des doses tolérées est variable suivant la composition du milieu nutritif, et suivant sa teneur en principes organiques.

Ces considérations permettent évidemment d'expliquer en partie les discordances des auteurs. D'après cela, il ne faut pas attacher une valeur absolue aux chiffres, qui, dans les expériences des divers auteurs, indiquent les doses tolérées. Pour un jugement précis sur cette question, il faudrait déterminer quelle est la dose de savon dissous en nature qui permet encore la culture de tel ou tel microbe. C'est une recherche chimique, dont il ne semble pas qu'on se soit jusqu'ici préoccupé.

II. Pouvoir bactéricide. J'ai employé la technique suivante. Dans plusieurs tubes à essai stérilisés, j'introduis 2 centimètres cubes de la solution savonneuse (solution à 5 ou 1 pour 100), dont j'ai préalablement éprouvé la stérilité. D'autre part, je prépare une dilution très étendue d'une culture en bouillon de bacille d'Eberth ou de staphylocoque; de cette dilution, j'introduis 1 ou 2 gouttes dans les 2 c. c. de la solution savonneuse. Après agitation du liquide, pour obtenir une répartition aussi uniforme que possible des éléments microbiens, je fais une série de prises à intervalles croissants, de quelques secondes à plusieurs heures, au moyen d'une même anse de platine, de manière à prélever des quantités toujours assez rigoureusement égales du liquide contenant les microbes en suspension, que l'on étale sur la surface d'un tube d'agar. Cette technique, qui pourrait être défectueuse avec un antiseptique capable d'empêcher la culture à très petites doses, est ici pleinement justifiée; l'expérience prouve que la quantité de savon ainsi transportée par l'aiguille de platine sur le milieu de culture, est absolument insuffisante à gêner en quoi que ce soit la culture; et cette technique présente un grand avantage: par le plus ou moins de richesse de la culture sur agar, on apprécie la diminution du nombre des éléments vivants, et l'on peut saisir, avant la stérilité complète, une série de degrés de fertilité décroissante, traduisant la mort successive des éléments immergés dans l'antiseptique.

A l'égard du staphylocoque, le savon a manifesté un pouvoir bactéricide peu énergique, mais très réel. Dans la solution à $\frac{1}{100}$, une partie des éléments étaient morts au bout de 2 heures, et la très grande majorité étaient détruits en moins de 29 heures. La solution à $\frac{5}{100}$ est beaucoup plus efficace: dans de multiples essais, j'ai vu le nombre des éléments se réduire dès les premières minutes, puis continuer à décroître; mais de rares germes survivaient, et demandaient des heures pour être détruits, comme si, parmi les éléments d'une culture de staphylocoque, un certain nombre se comportaient à l'égard du savon (n'en serait-il pas de même à l'égard d'autres antiseptiques ou de divers agents de destruction?) comme des éléments de résistance, jouant le rôle de spores.

Le bacille d'Eberth est bien plus sensible. Avec la solution à $\frac{1}{100}$, l'effet bactéricide n'est pas très considérable: j'ai vu les bacilles diminuer de nombre après 9 minutes, mais persister encore nombreux après 1 heure et 3 heures. La solution à $\frac{5}{100}$ est très active: dès les premiers instants, une partie des bacilles sont anéantis; la stérilité définitive est réalisée en quelques minutes: entre 3 et 10 minutes dans une expérience, entre 1 et 3 minutes dans une autre, en 1 minute dans un troisième essai. Il s'agit donc vraiment ici d'une action bactéricide énergique. La température joue un rôle: à 35—37°, l'effet a été un peu plus rapide qu'à 20—25°. Le temps nécessaire pour la mort de tous les bacilles immergés dépend dans une certaine mesure du nombre de ceux-ci. C'est dans un essai fait avec un petit nombre de bacilles, et à 35°, que j'ai observé la stérilité après 1 minute. De même que pour le staphylocoque, les bacilles plongés dans la solution savonneuse ne meurent pas tous ensemble à un moment donné, mais sont atteints successivement, ce qui tient sans doute à une inégalité de résistance des divers éléments d'une même culture; mais cette inégalité est ici beaucoup moins marquée que dans le cas du staphylocoque.

Un des faits cités dans le paragraphe précédant montre que le bacille peut mourir par un séjour prolongé dans un bouillon contenant du savon à une dose peu supérieure à celle qui permet encore la culture; c'est-à-dire qu'il y a un faible écart entre la limite des doses simplement dysgénésiques et les doses déjà mortelles. Il est même très probable que la même dose peut agir à la fois comme dysgénésique et mortelle, susceptible de tuer les microbes dont elle a d'abord permis la pullulation, comme cela s'observe très nettement de la part des températures dysgénésiques: c'est ainsi que le bacille d'Eberth ou le coli, placés à 44—45°, s'y cultivent; mais, si on laisse séjourner les cultures à cette température, en peu de jours elles ne tardent pas à mourir.

Je n'hésite pas à me ranger à l'avis de ceux qui reconnaissent au savon une réelle valeur antiseptique. Je ne puis souscrire aux conclusions de Conradi, qui nie ce pouvoir antiseptique, sous prétexte que des solutions à $\frac{1}{1000}$ ne sont pas bactéricides, ou que des solutions fortes ne tuent pas en quelques minutes les spores du B. anthracis. Ce dernier résultat limite la valeur antiseptique du savon, mais n'autorise nullement à la nier. Que le pouvoir bactéricide du savon ne soit pas suffisant, en pratique, pour détruire des germes très résistants, c'est possible: je ne me suis pas posé la question. Mais, sans aucun doute, il a une très réelle valeur comme agent de désinfection, lorsqu'il s'agit d'espèces microbiennes qui ne sont pas trop résistantes: à $\frac{1}{100}$, il est déjà capable de les tuer, pourvu qu'on prolonge son action; à $\frac{5}{100}$, l'effet bactéricide est énergique et rapide sur certains germes pathogènes comme le bacille d'Eberth, il est moindre, mais encore très notable, à l'égard du staphylocoque. Il importe de remarquer que les solutions à un titre élevé sont parfaitement réalisées dans la pratique; dans le lavage des mains, il est avéré que la mousse savonneuse présente un titre de savon très élevé, supérieur à $\frac{10}{100}$, par conséquent bien supérieur à celui des solutions avec lesquelles j'ai expérimenté. Pour la désinfection des mains en particulier, le lavage au savon, aidé du brossage, ainsi que le font les chirurgiens, et prolongé quelques minutes, est donc loin d'être négligeable comme moyen de désinfection.

L'action bactéricide des solutions savonneuses est influencée par la température. A 35°, mieux à 37°, elle se montre plus énergique qu'à

20—25°. Il peut y avoir à cela deux raisons: d'une part, on sait que la chaleur, même modérée, peut favoriser l'action d'un antiseptique, comme l'a signalé pour la première fois Arloing; d'autre part, il faut tenir compte de ce que, du moins pour la solution à $\frac{5}{100}$, la dissolution du savon est bien plus complète au-dessus de 35° qu'à 25°.

Il s'en faut de beaucoup que tous les individus d'une même culture, soumis à l'action du savon, meurent au bout du même temps; il y a un écart très marqué entre le moment où les éléments vivants commencent à diminuer, et le moment de la stérilité complète; ce qui traduit évidemment une résistance très inégale de la part des divers éléments d'une même culture. Cette donnée, très manifeste avec la technique que j'ai employée, ne ressort pas lorsqu'on emploie la technique classique, qui se borne à indiquer brutalement au bout de combien de temps tous les éléments immergés ensemble sont atteints. Dans mes expériences; cette inégalité de résistance, déjà notable dans le cas du bacille d'Eberth, s'est montrée extrêmement marquée avec le staphylocoque, ce qui laisse soupçonner dans les cultures de ce dernier microbe des formes résistantes susceptibles de jouer jusqu'à un certain point le rôle de spores.

J'attire encore l'attention sur un autre fait: le temps nécessaire pour la stérilité, c'est-à-dire pour la mort de tous les germes que l'on plonge dans une solution savonneuse dépend, dans une certaine mesure, de leur nombre: toutes choses égales d'ailleurs, un petit nombre d'individus sont plus tôt détruits qu'un grand nombre.

D'après cela, les chiffres qui ont la prétention de préciser l'énergie bactéricide d'un antiseptique par le temps nécessaire pour tuer tel ou tel microbe, n'ont qu'une valeur relative; puisque, d'une part, ce temps peut être très inégal suivant que l'on considère les individus les plus fragiles ou les plus résistants d'une même culture [abstraction faite des spores], et que d'autre part le temps exigé pour la destruction de tous les individus soumis à une épreuve variera suivant leur nombre. Généralement, on ne tient pas compte de ces éléments de la question; on se borne à dire d'un antiseptique que, à un titre donné, il détruit tel ou tel microbe en tant de temps, à telle température; cette formule absolue n'a rien d'exact. D'ailleurs, à cet égard, les assertions de différents expérimentateurs sur le même sujet sont divergentes; ces divergences trouvent en partie leurs explications dans les résultats qui précèdent.

Nachdruck verboten.

Die Sterilisation elastischer Katheter.

[Aus dem bakteriologischen Privatlaboratorium von Prof. Dr. H. Jäger, Straßburg i. E.]

Von **Paul Sittler**, Straßburg i. E.

Mit 1 Figur.

I.

Eine in der Praxis allgemein anwendbare Methode der Sterilisation elastischer (halbweicher) Seidengeflechtskatheter mit Lacküberzug ist trotz der zahlreichen diesbezüglichen Arbeiten noch nicht angegeben. — Metall- und Glaskatheter lassen sich durch Auskochen in Sodalösung

oder gewöhnlichem Wasser — wenn man eine Reizung der Urethra durch die an den Instrumenten zurückbleibende Soda befürchtet — sterilisieren. Auch Katheter aus Rotkautschuk halten dieses Verfahren mehrmals ohne Schaden aus (Warden, Herman, Nancvede und Hutchings) — bis zu 100mal (Mankiewicz). — Anders bei den Seidengeflechtskathetern, die in der folgenden Untersuchung hauptsächlich berücksichtigt sind[1]). Diese haben eine sehr geringe Widerstandsfähigkeit gegenüber den verschiedenartigsten zu ihrer Sterilisierung angewandten chemischen und besonders physikalischen Agentien, trotzdem die Keime, um deren Abtötung es sich bei Kathetern handelt, durchaus nicht immer gerade zu den widerstandsfähigsten Arten gehören.

Es sind dies besonders die bei Cystitis und eiterigen Erkrankungen der Ureteren und Nieren, dann aber auch die in der erkrankten und normalen Urethra vorkommenden Mikroorganismen. — Die normale Urethra enthält nach Kraus in durchschnittlich 60 Proz. der Fälle bei Männern und Frauen „Bakterien der verschiedensten Arten“, darunter von pathogenen das Bacterium coli, Staphylococcus pyogenes albus und aureus und Streptococcus pyogenes. Von quantitativen Untersuchungen liegt eine Arbeit von Franz vor, der unter 41 Fällen in der Urethra

8mal Staphylococcus pyogenes albus und aureus
1 „ Bacterium coli,
1 „ Streptokokken und
1 „ Gelatine nicht verflüssigende Diplokokken fand.

Savor fand bei 93 Frauen mit normaler Urethra
22mal Staphylococcus pyogenes, und zwar
16 „ „ „ albus,
6 „ „ „ aureus, ferner
14 „ Bacterium coli,
9 „ Diplokokken,
4 „ Streptokokken.

Auch die quantitativen Untersuchungen der Mikroorganismen der Harnröhre von Schwangeren und Wöchnerinnen ergaben stets ein bedeutendes Ueberwiegen der pyogenen Staphylokokken über die an zweiter Stelle folgenden Coli-Bakterien, während Streptokokken sich in geringerer Zahl fanden; ebenso bei früher erkrankt gewesenen Urethren (Savor). — Bei einer Nachuntersuchung dieser Ergebnisse müßten heutzutage die Staphylokokkenbefunde mittels der Agglutination kontrolliert werden mit Rücksicht auf die Ermittelungen von Kolle und Otto, wonach ein grundsätzlicher Unterschied besteht zwischen den spezifischen Eiterkokken und den zahlreichen saprophytischen Kokkenarten, die sich von jenen in ihren biologischen Eigenschaften nicht unterscheiden lassen, außer durch die Agglutinationsprobe. —

In der entzündeten Urethra finden sich nach Kraus als Erreger der Urethritis folgende Mikroorganismen:

Gonococcus Neisser (am häufigsten),
Bacterium coli (am zweithäufigsten),
Staphylococcus pyogenes aureus,
„ „ albus,
Diplokokken (Gram-negativ) und der
Tuberkelbacillus (Smegmabacillus?).

---

[1]) Bei meinen Versuchen habe ich diese Lackkatheter ausschließlich angewandt.

Die bei Cystitiden — und aufsteigenden Infektionen der höheren Harnwege (Ureteren, Nieren) — vorkommenden Keime sind nach demselben Autor der Häufigkeit nach geordnet:

Bacterium coli (bei weitem am häufigsten gefunden),
Proteus vulgaris Hauser,
Staphylococcus pyogenes,
Streptococcus „
Gonococcus Neisser,
Tuberkelbacillus,
Bacillus typhi,
„ pyocyaneus (seltener).

Auch die Mehrzahl der anderen Autoren hebt die Häufigkeit des Bacterium coli in der Pathologie der Harnwege hervor (Melchior, Roux, Imbert, Faltin). Bei gutartigen Eiterungen der Harnwege sind von Albarran und Cottet auch anaërobe Bakterien gefunden worden, deren Vorkommen aber nach diesen Autoren meistens bei den gangräneszierenden Prozessen dieser Organe beobachtet wird.

Vergleicht man die Häufigkeit der verschiedenen bei Cystitis als ätiologisches Moment gefundenen Keime mit den allerdings sehr wenig zahlreichen quantitativen Untersuchungen der pathogenen Mikroorganismen der normalen Urethra, so spricht ein solcher Vergleich — wenn er auch nicht streng beweisend sein kann — eher für als gegen die Ansicht der bei weitem häufigeren Entstehung der Cystitis durch Katheterisieren mit unreinen Instrumenten (Fürbringer, Barlow, Guyon, Grosglik, Janet, Kutner, Goldberg, Suter), während andere Autoren eine Einschleppung von Keimen aus der Urethra dafür verantwortlich machen (Rovsing, Savor). Auch die Arbeit von Baisch, der bei 40 frischen postoperativen Cystitiden bei Frauen in der Mehrzahl der Fälle Staphylokokken, bei alten Cystitiden mehr Coli-Bakterien fand, ist nicht beweisend für den Bakterienimport aus der Harnröhre in die Blase, wenn man die große Verbreitung der Staphylokokken in Betracht zieht, was auch Goldberg hervorhebt, ganz abgesehen davon, daß die Angaben von Baisch noch einer Nachprüfung an größerem Material und an Männern bedürfen. Im übrigen haben Posner und Frank gezeigt, daß gerade die Erreger der Cystitis — besonders Bacterium coli — an Kathetern noch nach längerer Zeit lebend gefunden werden, also auch wieder eine Infektion vermitteln konnten, trotzdem die Instrumente so behandelt waren, als sollten sie zu einem neuen Katheterismus verwandt werden (nach Gebrauch mechanische Reinigung, später Einlegen in ein Desinficiens). Auch Rovsing, obwohl einer der Hauptvertreter der Annahme von der überwiegenden Häufigkeit der urethrogenen Harninfektion, deren Möglichkeit, wenn sie auch selten sein mag, ja absolut nicht zu bezweifeln ist, führt Fälle von Cystitis an, bei denen er den Import der Keime von außen mit dem Katheter zugeben mußte. Gumprecht meint, daß man durch Ausspülungen vor dem Katheterisieren die Urethra „klinisch vollkommen genügend“ reinigen könne und spricht in seinem Buche die Ansicht aus: „Man kann sicher sein, daß die Ursache eines in der Praxis vorkommenden Blasenkatarrhs allemal in einem unreinen Katheter und nie in der Infektion durch Harnröhrenbakterien zu suchen ist.“ Und weiter: „Es ist wohl nicht zu zweifeln, daß die Ursache der Katheterisierungscystitis in der Außeninfektion und nicht in der Autoinfektion gelegen ist.“

Berücksichtigt man fernerhin den Umstand, daß in der neueren Zeit

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

auch das Katheterfieber nicht mehr als eine neurogene oder andere Störung angesehen, sondern von den meisten durch eine Resorption von Bakterien (Bertelsmann und Mau) oder Toxinen von der mit dem Katheter verletzten Schleimhaut aus erklärt wird (Moullin. Browne, Posner, Guyon, Zuckerkandl) — Hartmann führt einen Fall an, wo ein 65-jähriger Prostatiker jedesmal nach spontanem Urinieren fieberte, wenn nämlich der infizierte Urin mit den exkoriierten Harnröhrenwandungen in Kontakt kam, während keine Fieberanfälle auftraten, wenn der Urin mittels Katheter entleert wurde, — so dürfte die Notwendigkeit einer strengen Sterilisation der in der Praxis so viel gebrauchten elastischen Seidengeflechtskatheter keine weitere Begründung mehr erfordern; ganz abgesehen davon, daß ein Arbeiten mit nicht sterilen Kathetern, auch bei schon bestehender Harninfektion, in direktem Gegensatze zu den heute geltenden Grundsätzen der Asepsis stände (Phélip).

II.

Die Methoden, welche von den verschiedenen Autoren zur Sterilisation der elastischen Katheter angegeben und zum Teil noch heute in häufigem Gebrauche stehen, sind einerseits rein physikalische oder rein chemische oder auch Kombinationen von beiden Methoden, wie sie z. B. das Kochen der Katheter in antiseptischen Lösungen darstellt.

Von den primitivsten physikalischen Methoden beansprucht die von Schimmelbusch angegebene wohl nur noch historisches Interesse. Schimmelbusch hatte gemeint, daß „festes“ Abreiben während „einer Minute mit einem nassen (sterilen) Tupfer und nachheriges Trockenreiben mit einem trockenen fast immer genügt“, um vorher „stark“ mit Reinkulturen verschiedener Bakterien infizierte Instrumente äußerlich „keimfrei“ zu machen. „Um das Lumen der Katheter zu reinigen, muß man dieselben energisch mit warmem Wasser oder warmer Sublimat- oder Karbollösung durchspritzen.“ Schon kurze Zeit nach der Empfehlung dieses Verfahrens haben Barlow und Grosglik seine Unzulänglichkeit nachgewiesen. Mit Staphylococcus aureus und faulendem Urin infizierte Katheter wurden in den Versuchen von Grosglik nicht steril, wenn sie mit desinfizierten Händen 3—5 Minuten lang sorgfältig abgeseift oder 5—10 Minuten mit präparierter Watte in heißem Seifenwasser abgerieben, nachher 2—3 Minuten unter einen „dicken und starken Wasserleitungsstrom“ gebracht und dann mit sterilem Tuch abgetrocknet wurden. — Trotz dieser Kritik hat Leven einige Jahre später, indem er sich auf Schimmelbusch beruft, behauptet, es genüge, um die Katheter keimfrei zu machen, sie mit Alcohol absolutus „tüchtig“ abzureiben, um so mechanische und chemische Wirkung auf die Keime zu verbinden. Diesem Vorschlage gegenüber hebt Phélip hervor, daß vor allem der absolute Alkohol den Lack der Katheter zerstöre und auch ein ziemlich minderwertiges und unsicheres Desinfektionsmittel sei, dessen Durchspülen durch das Katheterlumen gar nicht im stande sei, genügend zu sterilisieren. Dazu sei noch bemerkt, daß Alkohol, als Fällungsmittel verschiedener, auch im Urin vorkommender Eiweißarten, bei eiweißreichen Harnen die Katheterdesinfektion eher erschweren als erleichtern dürfte.

Auch die Sterilisationsverfahren mittels trockener Hitze sind heute nicht mehr gebräuchlich. Delagénière hatte angegeben, daß elastische Katheter — im Trockensterilisator von Poupinel (vgl. Terrier) — die trockene Hitze von 110—120° während einiger Minuten gut ertragen und daran die Empfehlung geknüpft, die Instrumente während dreier Tage je einige Minuten bis 1/2 Stunde lang auf 100° trocken zu erhitzen; dadurch sei eine Sterilisation derselben zu erreichen. Bakteriologische Versuche ergaben in Bouillon kein Wachstum von vorher infizierten und so sterilisierten Kathetern (Lackhemmung? vgl. unten). Poncet behauptet, daß die Katheter im Trockenschranke bei 120—130° „ohne Veränderung einige Stunden“ liegen können und dann „vollständig steril“ sind. Nach Grosglik tötet 1/2 Stunde dauerndes Sterilisieren bei 130° Staphylococcus albus und aureus an Kathetern ab. Für die Praxis empfiehlt dieser Autor eine Temperatur von 140° im Trockenschranke. — Dagegen beobachteten Alapy, Schimmelbusch, Kutner eine Schädigung der weichen und halbweichen Katheter in heißer Luft.

Ein eigener Versuch hat mich von der Richtigkeit dieser letzteren Behauptung überzeugt.

4 Seidenkatheter, davon 2 neueren Fabrikates (einer dieser letzteren ungebraucht), wurden ca. 1/4 Stunde lang einer Temperatur von 140—150° ausgesetzt, wohl dem Minimum dessen, was beim Sterilisieren in trockener Luft in Frage kommt. Beim Herausnehmen aus dem Trockensterilisator war an allen Kathetern die obere Lackschicht stark blasig gequollen, wie wenn der Lack ins Kochen gekommen wäre. Bei den neuen Kathetern fand sich diese Veränderung hauptsächlich am oberen Ende, wo die Lacksicht dünner aufgetragen war, bei den beiden älteren stärker und über das ganze Instrument verbreitet. Bei einem der letzteren war die obere Lackschicht teilweise verkohlt. Dieses Sterilisationsverfahren verbietet sich also von selbst.

Als eine weitere Methode für die Sterilisation elastischer Katheter, die noch heute in vielfachem Gebrauche steht, ist der strömende Wasserdampf von 100° empfohlen worden. Dieses Verfahren hat zahlreiche Anhänger gefunden, von denen wieder verschiedene Apparate für den praktischen Arzt konstruiert worden sind, betreffs deren Beschreibung auf die Originalarbeiten verwiesen sei (Alapy, Albarran, Novotny, Barlow, Ruprecht, Jacob, Stein, Goldberg, Casper, Freudenberg, Grosse, Miskhailoff).

Im Anschlusse an die interessante und ausführliche Arbeit von Ruprecht, welcher zahlreiche Versuche angestellt hat, seien hier einige Bemerkungen gemacht. Ruprecht hat in seinem Apparate, der nach dem Prinzip der gewöhnlichen Dampfkochtöpfe arbeitet, Milzbrandsporen an Kathetern in ca. 1 1/2 Minuten abgetötet gefunden. Die Prüfung der Sporen auf ihre Widerstandsfähigkeit ergab, daß sie in siedendem Wasser nach 105 Sekunden abgetötet waren. — Zur Prüfung der Frage, wie schnell in seinem Apparate durch den Wasserdampf die Luft aus dem Lumen der Katheter vertrieben werde, verfuhr Ruprecht folgendermaßen: Er brachte U-förmig gebogene Glasröhren von verschiedener lichter Weite so in seinen Apparat, daß die Glasröhrenenden nach unten sahen, und ließ nun Wasserdampf von 100° einwirken. Nach 1/2 bis 5 Minuten wurde der ganze Apparat mitsammt den Glasröhren, so daß deren Enden immer sorgfältig nach abwärts gerichtet blieben, in Wasser eingetaucht. Das Wasser mußte da, wo die Luft in den Glasröhren durch den Dampf verdrängt war, in beiden Schenkeln des U-Rohres gleichzeitig aufsteigen, während eine eventuell in der Glasröhre zurückgebliebene Luftblase zwischen den beiden in den Schenkeln aufgestiegenen Wassersäulen sichtbar wurde. Als Resultat dieses Versuches ergab sich, daß „nach 1—5 Minuten langem Aufenthalt (sc. im Dampfe) ein weites Glasrohr, etwa einem Katheter No. 30 (Charrière) entsprechend, im Mittel noch 10 Proz. Luft, ein mittleres, etwa No. 18 entsprechend, 6,4 Proz. Luft, ein enges, etwa No. 7 entsprechend, nur 3 Proz. Luft“ enthielt. Daraus folgert Ruprecht: „Das Eindringen des Dampfes (sc. bei weiten Röhren) erfolgte also wahrscheinlich weniger vollkommen als bei engen Röhren.“ Dieser Schluß widerspricht dem physikalisch-chemischen Gesetze, nach welchem mehrere Gase einen und denselben Raum ohne gegenseitige Raumbeengung vollständig erfüllen können (vgl. Nernst). Es konnten also die beiden weiteren Röhren ebenso vollständig mit Wasserdampf gefüllt sein wie die dritte enge, trotzdem sie am Schlusse des Versuches mehr Luft als diese letztere enthielten. — Des weiteren hat Ruprecht gefunden, daß die Dauer der Sterilisationszeit von Kathetern zur Dicke der Katheterwandung direkt proportional und fast ganz unabhängig von der Weite des Lumens ist, d. h. diejenigen Katheter werden am schnellsten steril, welche die dünnste Wandung haben (engere Katheter haben gewöhnlich geringere Wandstärke). Das leuchtet auch ein, weil ja ein dünnwandiges Instrument sich schneller auf 100° erwärmt als ein dickwandiges. Nach dem vorhergehenden Befunde an den Glasröhren aber hatte Ruprecht erwartet, daß ungeachtet der Wandstärke der Katheter am schnellsten sterilisiert werde, aus dessen Lumen die Luft am ehesten vertrieben sei. — Auf diese beiden Befunde gründet Ruprecht die Schlußfolgerung: „Die maßgebenden Faktoren bei der Kathetersterilisation durch Dampfeinwirkung von außen sind Wärmeleitungs- und Wärmestrahlungsvermögen des Kathetermaterials, Wandstärke und Kaliber der Katheter. Die Wirkung des eindringenden Dampfes ist als ein nebensächlicher Faktor anzusehen.“ Diesem Schluß müssen die oben angeführten Einwendungen gemacht werden. Und wenn Ruprecht zum Beweise dieses Schlusses „Stücke eines Glasstabes in die beiden Oeffnungen feucht (sc. mit Milzbrandsporen im Lumen) infizierter und teilweise mehrere Tage getrockneter Katheter hineinzwängte“, sie dann dem Dampf aussetzte und nach derselben Zeit sterilisiert fand wie die (an den Enden offenen) Kontrollkatheter ($1^1/_2$—2 Minuten), so läßt sich dagegen immer noch einwenden, daß Glas und Kathetermaterial einen ungleichen Wärmeausdehnungs-Koëffizienten haben. Infolgedessen konnte sich möglicherweise bei der Erwärmung auf 100° zwischen Glasstöpsel und Katheterwandung ein für den Durchtritt des Dampfes genügend großer Zwischenraum bilden, d. h. der Verschluß mit den Glasstücken braucht nicht sicher vollkommen dampfdicht zu sein. Wenn sich, wie Ruprecht annimmt, in dem Katheterlumen kein Dampf befinden würde, sondern Luft, so müßten die in die Instrumente eingebrachten Milzbrandsporen durch trockene, heiße Luft von nur 100° abgetötet worden sein, was aber dem widerspricht, was wir bisher über die geringe Desinfektionskraft trockener Luft einerseits und über die Resistenz von Milzbrandsporen andererseits wissen.

Eine Art von Dampfsterilisierapparaten für elastische Katheter möge hier besonders erwähnt werden. Es sind dies diejenigen, welche mittels besonderer Vorrichtungen den Dampf durch das Katheterlumen hindurchleiten. Farkas hat hierzu einen kleinen, am oberen Ende konisch zugespitzten Metallkessel konstruiert, der mit warmem Wasser gefüllt und von unten angeheizt wird. Der Katheter wird mit dem oberen Ende auf die offene konische Spitze des

Metallkessels aufgesetzt, so daß der Dampf, der entwickelt wird, durch das Lumen des Katheters hindurchstreichen muß und an dessen unterem Ende (Auge) entweichen kann; für Desinfektion der Außenfläche der Instrumente begnügt sich Farkas mit Abwischen mittels Alkohol und Abspülen durch 3-proz. Borsäurelösung. Kutner, Grosglik, Ruprecht haben darauf aufmerksam gemacht, daß bei der Farkasschen Methode der Wasserdampf sich bis zur Unwirksamkeit abkühlt und kondensiert, ehe er noch den ganzen Katheter durchströmt hat (in ein hohles Schnabelende würde er kaum eindringen), während die Sterilisation der äußeren Katheterfläche auch nicht genügend ist. — Andere Apparate, bei denen der Dampf, ohne sich abkühlen zu können, ebenfalls die Innenfläche des Katheters durchströmen muß, aber erst dann abgeleitet (und abgekühlt) wird, nachdem er auch (vorher oder nachher) dessen Außenfläche sterilisiert hat, sind von Kutner, Frank, Grosglik, Ehrmann, Müller, Dreuw angegeben. Eine solche „unbegründete Komplikation der Sterilisationstechnik“ (Ruprecht) erscheint aber überflüssig (Alapy), weil ja auch in einem gewöhnlichen Dampftopfe ohne eine derartige besondere Vorrichtung und ohne daß deshalb die Sterilisationsdauer verlängert würde, der gesättigte Wasserdampf mit Leichtigkeit das Katheterlumen durchstreicht. Auch ein im Lumen zurückgebliebenes Gerinnsel würde, selbst bei engen Instrumenten, der Durchdringungsfähigkeit des Dampfes kein Hindernis entgegensetzen.

Die zum Sterilisieren der Katheter im strömenden Wasserdampfe nötige Zeit wird verschieden angegeben. Für die Praxis fordert Ruprecht 3—4 Minuten. Grosglik fand Staphylococcus albus und aureus an Kathetern in 5 Minuten abgetötet. Nach Kutner sind die Instrumente in 6—7 Minuten völlig steril. — Auch diese Zeit wäre noch nicht genügend, um z. B. Milzbrandsporen von der Resistenzfähigkeit, wie sie Strehl verwandt hat (Sterilisation erst nach 8 Minuten langer Einwirkung des strömenden Dampfes) abzutöten. Müller hat mit seiner Methode, die er für „sehr rasch und absolut sicher“ hält, „in 7—10 Minuten Keimfreiheit erzielt“. Grosse fand in seinem Apparate, der keine spezielle Vorrichtung zum Durchströmenlassen des Dampfes durch das Lumen der Katheter hat, in derselben Zeit (Maximum 10 Minuten) Staphylococcus pyogenes aureus, mit dem er die Katheter infiziert hatte, abgetötet. Grosglik, Alapy fordern 15 Minuten für die Praxis; letzterer hat Milzbrandsporen an Kathetern nach 15 Minuten langem Aufenthalte im strömenden Dampfe nicht mehr zum Auskeimen bringen können. Nach Goldberg macht $^1/_4$—$^1/_2$-stündiges Verweilen im Dampfe von 100° die Katheter steril. Miskhailoff verlangt 20 Minuten zur sicheren Abtötung von Krankheitskeimen. Dagegen fordern Freudenberg $^3/_4$ Stunde und Casper sogar 2 Stunden Dampfsterilisation.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß eine derartig durchgeführte Sterilisation die Katheter am sichersten aseptisch machen würde, wenn derselben nicht ein erheblicher Nachteil anhaftete. Es ist dies die Schädigung, welche die Katheter im strömenden Wasserdampfe erleiden (Mac Lennan, Hock, Kümmell, Heusner). Posner und Frank fanden Zerstörung der inneren Lackschicht; Katzenstein, der nach Kutner mit dessen Apparat Versuche angestellt hat, fand Katheter „aus bestem französischen Seidengespinst“ nach 2-, höchstens 3maliger Dampfdesinfektion „unbrauchbar“. Aehnliche Mißerfolge mit demselben

Apparate hatte auch Mankiewicz. Bei den Versuchen von Ruprecht zeigten einige Katheter „gleich nach dem ersten Versuche Risse und Sprünge an der Spitze“, andere blieben glatt, während „der Glanz etwas stumpfer wurde“, wieder andere wurden bei täglichem Sterilisieren während weniger Minuten erst nach ca. 2–3 Monaten „rissig in der Lackschicht“. Auch Grosse, der die Dampfsterilisation bei 100° als unschädlich empfiehlt, sah im gespannten Dampf von 120° nach $^1/_2$ Stunde Katheter „stark klebend und stark rissig werden“.

Alapy, Casper und Freudenberg raten, die Katheter, in Fließpapier oder Tücher eingewickelt in den Dampfapparat zu bringen, teils um zu vermeiden, daß sie beim Abkühlen im geschlossenen Apparate eine Schädigung durch das Kondenswasser erleiden, oder um ein Zusammenkleben der Instrumente zu verhindern.

Mit obigem decken sich auch meine Erfahrungen. Mehrere ungebrauchte Katheter (älteren Fabrikats), welche während 20 Minuten im strömenden Wasserdampfe sterilisiert wurden, waren sämtlich beim Herausnehmen aus dem Dampfapparate viel weicher als vorher und sehr stark klebrig, an zweien war ein Teil der äußeren Lackschicht flüssig geworden und, der Schwere folgend, etwas verlaufen. (Daß das Klebrigwerden durch Einwickeln der Instrumente in Papier nicht vermieden werden kann, liegt auf der Hand.) Katheter neueren Fabrikats wurden nach dem Verweilen im Dampf nur wenig klebrig, aber bedeutend weicher und brüchiger, so daß beim Anfassen oder Biegen sehr leicht Risse der oberflächlichen Lackschicht entstanden. — Diese Veränderungen glichen sich innerhalb der nächsten 24 Stunden zum Teil wieder aus.

Daß somit, in Anbetracht der schnellen Schädigung und des hierdurch bedingten Mehrverbrauchs der Katheter, diese Dampfsterilisiermethode in der allgemeinen Praxis kaum anwendbar ist, ist einleuchtend.

Es sei an dieser Stelle nur noch kurz auf einen Fehler hingewiesen, der sich bei bakteriologischen Versuchen mit Kathetern, die im Dampf sterilisiert waren, leicht einschleicht und, soviel ich übersehen kann, auch bei den Untersuchungen der vorher zitierten Autoren nicht genügend berücksichtigt ist. — Wenn man die Katheter — nachdem sie sich abgekühlt haben — direkt aus dem Dampfapparat in Bouillon bringt, so lösen sich in der Bouillon Lackteile des Katheters auf, die ihr eine geringe entwickelungshemmende Wirkung, Bakterien gegenüber, verleihen.

Versuch: Eine Bouillonröhre, in der sich ein Katheter befand, der 45 Minuten im Dampfe bei 100° verweilt hatte, zeigte, mit Staphylococcus pyogenes aureus geimpft, zwar nach 24 Stunden Brüttemperatur eine durch Staphylokokkenentwickelung bedingte Trübung, die aber viel schwächer war als in einer mit der gleichen Oese geimpften Kontrollröhre, welche keine Lackbestandteile enthielt. Auch nachdem die Bouillonröhre mit dem Katheter weitere 10 Tage bei Zimmertemperatur (während des Hochsommers) gestanden hatte, erreichte die Stärke der Trübung nicht diejenige der gleichbehandelten Kontrolle. Ein weiterer Katheter, der ebenfalls 45 Minuten im strömenden Dampfe sterilisiert war, wurde nach dem Abkühlen in Bouillon gebracht, die einen Milzbrandsporenfaden enthielt (an Seidenfäden angetrocknete, sporenhaltige Milzbrandbouillon-Aufschwemmung). Während nun ein Kontrollfaden schon nach 24 Stunden im Brütschranke starkes

Wachstum zeigte, war an der Bouillonröhre, in die der Katheter tauchte, auch nach 5 Tagen Brüt- und weiteren 5 Tagen Zimmertemperatur nicht das geringste Wachstum zu bemerken. Demgegenüber ließ sich bei Kathetern, welche, ohne irgend welche Vorbehandlung (Dampf, Kochen etc.) erfahren zu haben, in frisch mit Staphylococcus pyogenes aureus oder Bacillus prodigiosus geimpfte Bouillon gebracht wurden, eine derartige entwickelungshemmende Wirkung im Vergleich zu den Kontrollröhren nicht nachweisen; höchstens daß ein Milzbrandsporenfaden in der Bouillon, in der sich der (nicht im Dampf gewesene) Katheter befand, etwas weniger kräftig auswuchs als der Kontrollfaden. Sporen von Bacillus mesentericus vulgatus wurden durch Katheter, welche während 45 Minuten im strömenden Dampfe gewesen waren, fast nicht in ihrer Entwickelung gehindert.

Zu den obigen wie auch zu meinen späteren Versuchen wurden die gewöhnlichen Bouillonröhren verwandt, in die der Katheter mit dem unteren Ende (Auge) derart eintauchte, daß er etwa in einer Länge von 5 cm von Bouillon umspült war, die auch in das Lumen eindringen konnte, während das obere Katheterende neben dem Wattepfropf aus dem Reagenzglase herausragte, aber nach unten umgebogen wurde, so daß eine Luftinfektion (durch das Katheterlumen hindurch) ausgeschlossen war.

Als letzte der physikalischen Sterilisationsmethoden muß das Kochen der Katheter genannt werden, das sich wegen seiner Einfachheit in der Praxis mehr Anhänger erworben hat als die Dampfsterilisation. Für das Auskochen der Instrumente in gewöhnlichem Wasser sind eingetreten Duchastelet, Guyon, Nicoll, Herring, Nancvede und Hutchings, Tscherning, Goldschmidt, Hirt, Goldberg. Der letztere Autor hat daneben auch das Kochen in Borsäurelösung empfohlen, um dann die Katheter in derselben Lösung, die zum Kochen gedient hat, aseptisch aufbewahren zu können. Die zum Sterilisieren erforderliche Zeit wird von Guyon, Nicoll und Goldberg auf 5—10—15 Minuten angegeben.

Während Goldberg, der mit Seidenkathetern ganz neuen Fabrikates arbeitete, behauptet, daß gute Instrumente das Kochen 30—50mal und mehr aushalten, wird dem Verfahren von verschiedenen anderen Seiten der Vorwurf gemacht, daß es die Katheter noch mehr schädige als der strömende Wasserdampf. Nach Grosglik verderben „selbst die besten Sorten von elastischen Instrumenten . . . in siedendem Wasser volltändig“. Kutner fand, daß die Katheter ihre Elastizität verloren und Risse und Sprünge bekamen. Ebenso meint Stein, daß elastische Katheter gewöhnliches siedendes Wasser „selten längere Zeit hindurch, ohne Brüchigkeiten, Unebenheiten und selbst Sprünge im Lacküberzuge aufzuweisen“, ertragen können. Dasselbe beobachteten Warden, Herman, Verhoogen und Heusner. Gegen das Kochen sprechen sich auch aus Albarran, Posner und Frank, Leven, Huldschiner, Mac Lennan, Hock.

Claudius hat zur Vermeidung der oben erwähnten Nachteile des gewöhnlichen Wassers, dessen Anwendung er vollständig verwirft, das Kochen der Katheter in einer konzentrierten Kochsalzlösung (4 NaCl : 10 Wasser) eingeführt, wodurch innerhalb 2 Minuten die Katheter sterilisiert würden. Dieser Empfehlung haben sich Cauchois, der statt NaCl auch KCl verwendet, Verhoogen und Cotton angeschlossen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

Eine größere Verbreitung hat aber diese Methode nicht gefunden, wohl deshalb, weil zu gleicher Zeit ein anderes, besseres Verfahren in Gebrauch kam, das Kochen in konzentrierter Ammonsulfatlösung (3 Teile : 5 Teilen Wasser), wie es analog schon vorher zur Catgutsterilisation angegeben worden war. Nach Herman sind Katheter nach 3—5 Minuten langem Kochen in dieser Lösung steril, und machen die mit dem Instrument eventuell in die Urethra eingebrachten Ammonsulfatteilchen keine Reizung der Schleimhaut. Kümmell fand nach 2 Minuten langem Kochen Katheter und Ureterenkatheter, die er mit Streptokokken, Bacterium coli und Harnbakterien infiziert hatte, völlig steril. Die Instrumente zeigten keine Veränderung ihrer Oberfläche, wie man sie beim Kochen in gewöhnlichem Wasser findet. Für die Praxis sei eine Sterilisationsdauer von 5—10 Minuten ausreichend. Zu Gunsten dieses Verfahrens haben sich weiterhin ausgesprochen Görl, Mankiewicz, Heusner, ferner Cauchois, Cotton, welch letztere es der vorigen Methode gleichstellen. Heusner hat behauptet, daß auch ein 9—12-stündiges Kochen in Ammonsulfatlösung die Katheter nicht angreife, während die gleiche Behandlung mit Borsäure- oder konzentrierter Kochsalzlösung schädigend wirke (allerdings weniger als Kochen in gewöhnlichem Wasser). Auch das Kochen in 20-proz. Zuckerlösung und Sterilisieren in Paraffinum liquidum (bei 95—97° im Wasserbade) wird von den Instrumenten nach Heusner sehr gut ertragen. — Casper, der dem Auskochen in Ammonsulfatlösung neben der Dampfsterilisation vor allen anderen Verfahren den Vorzug gibt, macht darauf aufmerksam, daß Ammonsulfat „bei wiederholtem Kochen“ die Katheter weich und unansehnlich mache.

Auf einen sehr ins Gewicht fallenden Nachteil, der sämtlichen Kochmethoden anhaftet, hat schon Albarran hingewiesen. Katheter, an denen Eiterharn angetrocknet ist, werden auch durch $^1/_2$-stündiges Kochen nicht sicher sterilisiert; nur wenn die Katheter vorher mit 70-proz. Alkohol und 1-promill. Sublimatlösung durchspült und abgewaschen seien, genüge 20 Minuten langes Kochen zur Sterilisation. Nach Guyon kann längere Berührung infizierter Instrumente mit Gleitmitteln (Oel, Vaseline) das Sterilisieren durch 5—10 Minuten langes Kochen unwirksam machen, auch wenn dem Kochen eine mechanische Reinigung vorangegangen ist. Auch Kutner ist der Ansicht, daß halbweiche und weiche Katheter durch kurzdauerndes Auskochen in ihrem Lumen nicht immer sicher sterilisiert werden. Goldberg fand, daß Katheter, die „längere Zeit“ in Eiterharnen gelegen hatten, nach 5 Minuten langem Kochen in 25 Proz. der Fälle nicht steril waren, während für „eingefettete und eingeölte, nicht gereinigte, in ein Gemisch von alten stinkenden Eiterharnen für längere Zeit hineingelegte Katheter“ nach $7^1/_2$ Minuten langem Auskochen nur in 72 Proz. der Fälle sich eine vollständige Abtötung der Keime erreichen ließ; dagegen wurden mit Bouillonkulturen von Staphylococcus pyogenes aureus infizierte Instrumente beim Kochen in 5 Minuten immer steril. — Diese Beobachtungen widersprechen dermaßen den bisherigen Erfahrungen über die Wirkung des Kochens, daß ein Zweifel an den Resultaten kaum unterdrückt werden kann. Auch Ruprecht spricht sich „nach seinen Erfahrungen“ ähnlich aus. — Da ein solcher Mißerfolg des Auskochens (unter Annahme der Richtigkeit obiger Versuche) wohl nur mit der Fällung der Eiweißsubstanzen im Eiter (Schutz der so eingeschlossenen Keime vor der Hitzeeinwirkung) allein erklärlich sein könnte (Kutner), so muß er beim Kochen in kon-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CHICAGO

zentrierten Kochsalz- oder Ammonsulfatlösungen, die ja ausgesprochene Eiweißfällungsmittel sind, noch viel stärker hervortreten.

Eigene Versuche zur Prüfung der Kathetersterilisation mittels der verschiedenen Kochmethoden.

Erste Versuchsreihe.

15 ungebrauchte teils rote, teils schwarze Seidenkatheter (älteren Fabrikats), welche $^1/_4$ Stunde im strömenden Dampfe sterilisiert waren, wurden, nachdem sie sich abgekühlt hatten, während 20 Stunden in je einer Bouillonröhre einer eintägigen Kultur von Bacterium coli bei 37° aufbewahrt. Die betreffende Coli-Kultur war, aus Stuhl isoliert, von einer modifizierten Endoplatte (vgl. Klinger) abgeimpft und mittels Neutralrot-Traubenzuckeragar (Gasbildung und Fluoreszenz), Lackmusmolke (Rötung), Milch (Gerinnung) und beider von Barsiekow angegebenen Nährböden (Kaseïnfällung) auf ihre Identität geprüft. Die Katheter tauchten dabei, wie oben beschrieben, mit ihrem unteren Ende (Auge) in einer Höhe von ca. 5 cm in die Bouillon, die auch durch das Auge nach dem Gesetze der kommunizierenden Röhren (bei dünnen Instrumenten nach dem der Kapillarität) in das Lumen aufsteigen mußte. Ebenso wurden die Katheter nach Beendigung des Sterilisationsversuchs wieder in frische Bouillon zurückgebracht, so daß immer der ganze infizierte Teil wieder mit dem frischen Nährmedium in Kontakt kam. Mit dieser Versuchsanordnung stehe ich im Gegensatze zu einer der Forderungen Goldbergs, deren Berechtigung ich aber nicht anerkennen kann, in welcher er verlangt, daß der ganze Katheter in die infizierende Flüssigkeit und infolgedessen auch nach der Sterilisation wieder ganz in das frische Nährmedium eingetaucht werden müsse. Nachdem die infizierten Katheter aus den Coli-Bouillonröhren herausgenommen und während 6 Stunden im Brütschranke getrocknet waren, wurden damit die folgenden Kochversuche angestellt; dabei befanden sich die Kochflüssigkeiten in Bechergläsern, in welche die Katheter mit den infizierten Enden eintauchten, so daß die Instrumente bis zu einer Höhe von ca. 12 cm von der Flüssigkeit umspült wurden. — Die Nährmedien wurden in diesem wie in den späteren Versuchen, falls keine anderen Angaben gemacht sind, während der angegebenen Zeit im Brütschrank bei einer Temperatur von 37° aufbewahrt.

1) Verbringen dreier Katheter in gewöhnliches kochendes (Wasserleitungs-)Wasser; nach 5, 10 und 15 Minuten wird je ein Katheter herausgenommen und sofort in eine frische, sterile Bouillonröhre gebracht; die Katheter sind nach dem Kochen nicht klebrig wie beim Herausnehmen aus dem Dampfapparate. Alle 3 Röhren werden nach 3 Tagen trüb mit Kahmhautbildung. Abimpfung von der trüben Bouillon auf Agarstrichröhren ergibt kein Bacterium coli, sondern Reinkulturen von Bacillus mesentericus vulgatus. Auch bei etlichen der folgenden Versuche hatte ich gegen Verunreinigung mit diesem Mikroorganismus anzukämpfen (vgl. Ruprecht, Goldberg), dessen Sporen, wie mir ein Versuch zeigte, sich weder durch einstündiges Verweilen im Wasserbade bei 100° noch durch einen ebenso langen Aufenthalt im strömenden Dampfe abtöten ließen (siehe unten). (Ob diese Verunreinigung durch das verwandte Wasserleitungswasser [vgl. Kayser] oder durch Staub an die Katheter gekommen ist, habe ich nicht weiter untersucht.) Infolgedessen war ich einige Male gezwungen, um zu ein-

deutigen Resultaten zu gelangen, von den gebrauchten Bouillonröhren noch Kulturplatten anzulegen.

2) Ein Katheter bleibt 2 Minuten in 1-proz. kochender Sodalösung, wird dann in steriler Bouillon abgewaschen und in eine frische Bouillonröhre gebracht; nach 3 Tagen ist dieselbe klar und zeigt auch im mikroskopischen Präparat keine Bakterien.

3) Ein Katheter, der 1 Minute lang in 2-proz. Sodalösung abgekocht, dann in steriler Bouillon abgespült war, ergrbt, in frische Bouillon gebracht und nach 3 Tagen auf Agar abgeimpft, ebenfalls kein Wachstum von Bacterium coli.

4) Drei Bouillonröhren mit Kathetern, die je 1, 5 und 10 Minuten in kochender Ammonsulfatlösung (3 Teile gesättigte Ammonsulfatlösung auf 5 Teile Wasser) gewesen, sind nach 3 Tagen ganz klar und zeigen im mikroskopischen Präparate keine Bakterien.

5) Zwei Katheter werden je 1 und 2 Minuten in gesättigter Lösung von Ammonsulfat gekocht, in steriler Bouillon abgespült und auf 3 resp. 4 Tage in frische Bouillon gebracht; danach Abimpfung von den Röhren auf Agarstrich. Sämtliche Röhren bleiben frei von Bacterium coli.

6) Ein Katheter wird während 2 Minuten in 1-proz. Borsäurelösung, ein anderer Katheter während 1 Minute in 3-proz. Borsäurelösung gekocht und 2 Tage in Bouillon gebracht; Abimpfungen von beiden Bouillonröhren nach dieser Zeit auf Agar ergeben kein Wachstum von Bacterium coli.

7) Ein Katheter wird während 1 Minute in Kochsalzlösung (4 NaCl : 10 Wasser) gekocht und 2 Tage lang in Bouillon gebracht; danach Abimpfung auf Agar, auf dem kein Bacterium coli wächst.

8) Zwei Katheter in Kochsalzlösung (4 : 10), je 5 und 10 Minuten gekocht und in Bouillon gebracht, machen nach 2 Tagen keine Trübung der beiden Röhren. Mikroskopisch finden sich keine Bakterien.

Am Ende dieser Versuche ist kein einziger von den Kathetern unverändert geblieben. Die Katheterenden sind, größtenteils durch das Verweilen in der Bouillon, zum Teil aber auch durch das Kochen verfärbt, die äußere Lackschicht ist an allen Kathetern warzig oder auch runzelig gequollen, an einigen sehr stark, so daß sich davon geringe Trübungen in der Bouillon bildeten.

Diese gequollenen Katheter scheinen ebenfalls auf Mikroorganismen einen geringen entwickelungshemmenden Einfluß auszuüben (auf Kartoffelbacillensporen wirkten sie kaum ein), denn eine Bouillon, mit einem Katheter ca. 5 Minuten über dem Bunsenbrenner erhitzt und nach dem Abkühlen mit einem Milzbrandsporenfaden geimpft, zeigte nach 2 Tagen noch keine Bakterienentwickelung (Lackauflösung). Nachdem der Katheter entfernt und nach 2 weiteren Tagen kein Wachstum eingetreten war, wurde der Faden auf Agar gebracht, auf dem sich innerhalb 24 Stunden eine große Milzbrandkolonie entwickelte, die im mikroskopischen Präparate typische Bacillenfäden erkennen ließ.

Zweite Versuchsreihe.

12 ungebrauchte Katheter (älteren Fabrikates) werden während 20 Minuten im strömenden Dampf sterilisiert und nach dem Trocknen zur Prüfung ihrer Sterilität auf 24 Stunden in Bouillonröhren gebracht,

welche klar bleiben. Aus der Bouillon kommen die Katheter auf 2 Tage bei 37° in 24-stündige Typhusbouillonkulturen, die, von einer modifizierten Endoplatte abgeimpft, durch Immunserum von 1 : 1000 agglutiniert wurden und kontrolliert waren durch Wachstum auf Milch = keine Gerinnung, Lackmusmolke = keine Säurebildung, Neutralrot-Traubenzuckeragar = keine Gasbildung, keine Fluoreszenz, Nährboden von Barsiekow mit Traubenzucker = geringe Fällung, Nährboden von Barsiekow mit Milchzucker = keine Fällung. Die Katheter werden nach dem Herausnehmen aus der Typhusbouillon während 24 Stunden im Brütschranke getrocknet und zu folgenden Kochversuchen, mit derselben Anordnung wie in den vorhergehenden Versuchen, verwandt:

Je ein Katheter wird gekocht während 5, 10 und 15 Minuten in gewöhnlichem Wasser, 2 Minuten in 1-proz. und 1 Minute in 2-proz. Sodalösung, 1 und 5 Minuten in Ammonsulfatlösung (3 gesättigte Lösung : 5 Wasser), 2 Minuten in 1-proz. und 1 Minute in 3-proz. Borsäurelösung, 1, 2 und 5 Minuten in Kochsalzlösung (4 : 10). Nach dem Kochen werden sämtliche Katheter (mit Ausnahme der in Wasser gekochten) in steriler Bouillon abgespült und auf 24 Stunden in frische Bouillon gebracht. Danach werden von den Bouillonröhren Endoplatten angelegt, nur bei den 3 Kathetern, die 10 Minuten in Wasser, 1 Minute in 2-proz. Soda- und 5 Minuten in Kochsalzlösung gekocht waren, wird von der Bouillon auf Agarstrich abgeimpft. Weder auf den Platten noch auf dem Agar gingen Typhuskolonieen auf. Die Agarröhre, welche mit der Bouillon beimpft war, deren Katheter 5 Minuten in NaCl-Lösung gekocht hatte, zeigte eine makroskopisch verdächtige Kolonie, die sich aber mikroskopisch als aus Kokken bestehend erwies.

Bei diesen Versuchen habe ich speziell auf die Veränderungen geachtet, welche die noch intakten Katheterteile durch das Kochen erlitten haben: Die oberflächliche Lackschicht quoll auf am stärksten in den Sodalösungen, wo sie sich teilweise sogar ablöste, demnächst bei den Borsäurelösungen und dem gewöhnlichen Wasser, wo die Katheter runzelig oder warzig aussahen; auch in der Kochsalzlösung quoll der Lack etwas und die Katheter wurden so weich, daß 2 davon im Becherglase während des Kochens einknickten. In der Ammonsulfatlösung war bei einem Instrumente der Lack an den gekochten Stellen nur schwach runzelig abgehoben, während das andere allein von allen verwandten Kathetern unverändert blieb. — (An den von Bouillon umspülten Stellen war der der Lack oberflächlich noch viel stärker zerstört.) —

Bei einem ungebrauchten Katheter (älteren Fabrikats), den ich während ca. $^1/_4$ Stunde in Wasserleitungswasser gekocht hatte, fand ich die obere Lackschicht stark gelblich verfärbt, blasig abgehoben und die Decke der entstandenen Blasen teilweise eingerissen; der Katheter war sehr weich und brüchig geworden, so daß das untere Ende bei geringem Drücken zerbrach. Auch ein ungebrauchter Katheter neueren Fabrikats, der nach $^1/_4$ Stunde kaum irgend welche Veränderung zeigte, wurde nach $^1/_2$-stündigem Kochen sehr erheblich geschädigt. —

Die obigen Befunde haben zwar die Möglichkeit dargetan, an Kathetern innerhalb kurzer Zeit durch Kochen vegetative Bakterienformen abzutöten, aber die schnelle Schädigung, welche die Instrumente beim Kochen erleiden, muß naturgemäß einer allgemeinen Verbreitung dieser Methode trotz ihrer Einfachheit hindernd im Wege stehen.

III.

Die Schädigung der Seidengeflechtskatheter durch die physikalischen Sterilisationsmethoden, neben dem Wunsche nach einem möglichst einfachen Verfahren, hat schon früh den Anlaß gegeben, eine Abtötung der Keime an Kathetern durch chemische Desinfektionsmittel zu versuchen. Schon Schimmelbusch sah sich genötigt, das Lumen, das er nicht durch Abreiben säubern konnte, wie die Katheteroberfläche, mittels Durchspritzen warmer Sublimat- oder Karbollösungen zu reinigen. Vor ihm hatte auch Englisch antiseptische Lösungen angewandt; ähnlich Tuffier. Das am meisten gebrauchte Antiseptikum war eine 1-prom. Sublimatlösung in Wasser (Tuffier, Müller, Nicoll, Stein). Natürlich muß der Anwendung des Sublimats eine sorgfältige mechanische Reinigung des Katheters vorangehen, weil am Instrument zurückbleibende eiweißhaltige Substanzen (Eiter, Blut, Schleim, eiweißhaltiger Urin), infolge der Fällung durch das Sublimat, die Keime vor der Einwirkung des Desinficiens gerade schützen würden, während ein alkalischer Urin das ausgefällte Eiweiß, und damit die eingeschlossenen Mikroorganismen mit Leichtigkeit wieder in Lösung bringen könnte. — In der 1-prom. Sublimatlösung sollten die Katheter ca. $^1/_2$ Stunde liegen bleiben. Desnos verwandte eine 1-proz. Sublimatlösung, ließ die Instrumente darin nur kurze Zeit und legte sie dann auf längere Zeit in 5-proz. Borsäurelösung. Andere Autoren haben 3—5-proz. Karbollösungen angewandt (Novotny, Nicoll). Von Guyon ist auch (als weniger schädlich für die Instrumente wie andere Antiseptika) Argentum nitricum in einer Konzentration von 1:1000 empfohlen worden; Krogius und Chydenius wollen mit 2-prom. $AgNO_3$-Lösungen Katheter in 1 Stunde „sicher" sterilisiert haben, allerdings nur dann, wenn dieselben fettfrei waren, während Guiard eine 1-proz. Lösung dieser Substanz angewandt wissen will, um die Keime an Kathetern zuverlässig abzutöten. Barlow hat von 6 verschiedenen Desinfektionsmitteln (Lysol, Kreolin, Chlorwasser, Karbolsäure, Sublimat, Argentum nitricum), die er in verschiedenen Konzentrationen auf Katheter einwirken ließ, die mit Staphylococcus pyogenes aureus infiziert waren, nur die zwei letzteren (Sublimat und Argentum nitricum) ohne erheblicheren Schaden für die Instrumente verwenden können; und diese Substanzen waren nur wirksam, wenn die Katheter vorher nicht mit Paraffin oder Fett (sondern mit Glycerin) schlüpfrig gemacht waren, und das Zurückbleiben von Luftblasen im Lumen mittels Durchspritzen des Desinficiens durch den Katheter sorgfältig verhütet wurde. Dieselbe Beobachtung machte Delagénière, der enge infizierte Katheter, die er ohne weiteres in 1-prom. Sublimatlösung legte, noch nach 12, 24 und 30 Stunden keimhaltig fand. Grosglik hat dünne Seidenkatheter mit vegetativen Bakterienformen infiziert und, nachdem er sie 5—10 Minuten sorgfältig abgeseift, unter einen Wasserleitungsstrom gebracht und 20—30 Minuten in 1-prom. Sublimatlösung gelegt hatte, nicht steril gefunden (2 Bougies wurden durch diese Behandlung steril); die Katheter waren auch dann nicht steril, wenn noch die Sublimatlösung mit „steriler Spritze" 3—5mal durch das Lumen hindurchgetrieben worden war. Auch 15 Minuten langes Verweilen in 1-proz. Sublimatlösung sterilisiert Katheter nicht (Fourcault). Durch Reinigen und Durchspritzen mit Alkohol und 1-prom. Sublimatlösung konnte Fourcault Katheter nicht keimfrei machen; ebenso Alapy. Oben ist schon kurz erwähnt, daß von Posner und Frank an Seidenkathetern, welche durch „Abseifen und Durchspülen nach dem Gebrauche, Aufbewahren in trockener Gaze, vor dem erneuten Gebrauche Einlegen in Karbol- oder Lysollösungen“ gereinigt waren, dieselben Keime nachgewiesen werden konnten wie im Harn der Kranken, welche die betreffenden Instrumente vorher gebraucht hatten, „obwohl die Katheter erst lange (bis zu 14 Tagen) nach dem letzten Gebrauche“ untersucht wurden. Aehnlich spricht sich Heusner aus. Nach Löb werden Katheter mit angetrocknetem Eiter und mit angetrockneten Milzbrandsporen auch bei 48-stündiger Einwirkung von 1-prom. Quecksilbercyanidlösung noch nicht steril; dieselbe Lösung mußte gebrauchte Ureterenkatheter während 24 Stunden durchfließen, um ihr Lumen steril zu machen.

Ein anderer ebenso schwerwiegender Grund gegen die Anwendung der chemischen Katheterdesinfektion ist der, daß sämtliche gebräuchlichen Desinfektionsmittel — auch Sublimat und Argentum nitricum — die elastischen Katheter mehr oder weniger schnell zerstören. Die oberflächliche Lackschicht auch der ganz neuen Instrumente wird bald unansehnlich, klebrig und rauh, dadurch, daß der Lack aufquillt, rissig und schließlich zerstört wird (Delagénière, Poncet, Alapy, Albarran, Güterbock, Schimmelbusch, Fourcault, Posner und Frank, Kutner, Huldschiner, Warden, MacLennan, Löb, Mankiewicz, Phélip, Goldberg). Im übrigen sei noch darauf hingewiesen, daß zur Vermeidung einer Reizung der Urethra durch die zur Desinfektion der Katheter angewandten chemischen Substanzen (Guyon, Grosglik) eine Abspülung der Instrumente in sterilem Wasser vor ihrem Gebrauche nötig wird, daß also die scheinbar einfachere chemische Desinfektionsmethode die Anwendung eines Kochtopfes keineswegs überflüssig macht.

Zur Vermeidung dieser beiden Uebelstände hat L. Wolff versucht, statt der wässerigen Lösungen der verschiedenen Antiseptika Glycerinlösungen zu verwenden, und gefunden, „daß Instrumente (d. h. elastische Seiden- und Gummikatheter) nach jahrelanger Einwirkung von Bor-, Formalin- oder Sublimatglycerin, mit und ohne Wasserzusätze, ihre Geschmeidigkeit und Oberflächenbeschaffenheit noch besitzen, während andere, die trocken aufbewahrt waren, hart und brüchig geworden sind“. Weil nun antiseptische Lösungen erst mit über 50 Proz. Glyceringehalt eine schwächere keimtötende Wirkung als entsprechende wässerige Lösungen haben sollen, und 10-proz. Borglycerin noch in 24 Stunden Streptococcus pyogenes nicht abgetötet hatte, während er bei Formalinglycerin Reizung der Harnröhre beobachtete, so empfiehlt Wolff schließlich die Anwendung einer 1-prom. Sublimatlösung in Glycerin und Wasser zu gleichen Gewichtsteilen. Diese Lösung vernichtet an Kathetern sporenfreie Mikroorganismen aus Harnsedimenten in 6 Stunden, sporenhaltige „spätestens“ in 24 Stunden. Für die Praxis genüge das Einlegen der Katheter in diese Lösung während 6 Stunden. Eventuell können die Instrumente in dieser oder einer 2-prom. Sublimatlösung in Glycerinwasser āā gekocht werden, wobei in einer Mischung von Bacterium coli, Proteus vulgaris, Staphylococcus pyogenes, Streptococcus pyogenes und Sporen, womit sie infiziert waren, innerhalb 2 Minuten sich alle Mikroorganismen als abgetötet erwiesen (Wolff). — Oefteres Ausführen dieser Prozedur schädigt aber die Instrumente (Heusner). — Die bakteriologische Prüfung zu den obigen Versuchen hat Wolff folgendermaßen gemacht, daß infizierte Katheterstückchen je 6 und 24 Stunden in dem Sublimatglycerinwasser lagen (eventuell 2 Minuten darin gekocht wurden), um nach dieser Zeit — von einer chemischen Neutralisation des Sublimats ist nicht die Rede — „in Gelatine übertragen zu werden". „Je 2 gleich behandelten Stückchen wurde ein (sc. in gleicher Weise infiziertes) Kontrollstück beigegeben, das, abgesehen von der längeren Einwirkung des Antiseptikums bei jenen, vollkommen analog behandelt und auch einen Moment in die Lösung getaucht wurde." Wenn nun von diesem, „einen Moment" in die antiseptische Lösung getauchten Katheterstücke Kolonieen auswuchsen, von den anderen, 6 und 24 Stunden behandelten (oder von den gekochten) nicht, so hielt Wolff diese letzteren für sterilisiert. — Diese Ansicht beruht auf einem Irrtum; ich erinnere nur an den bekannten, zuerst von Geppert ausgeführten Versuch, wo Milzbrandsporen, die eine kurze Zeit in Sublimatlösung gelegen hatten, auch ohne chemische Entfernung des Sublimats, auf Nährmedien zur Entwickelung kommen, während Sporen, die länger im selben Antiseptikum lagen, nur dann auswachsen, wenn das Sublimat, vor der Uebertragung der Keime auf Nährböden, mittels Schwefelammon ausgefällt war. — Die Möglichkeit, daß sporenhaltiges Material innerhalb 24 Stunden in einer 1-prom. Sublimatlösung in Glycerinwasser āā abgetötet werden kann, soll ja damit nicht bestritten werden, nur die Annahme Wolffs, daß die Keime an den Katheterstücken ebensoviel Sublimat aufgenommen haben, ob sie 24 Stunden oder nur „einen Moment" im Antiseptikum lagen, ist irrig und hätte eine chemische Neutralisierung des Sublimats zu eindeutigeren Resultaten geführt. — In der Praxis scheint die Wolffsche Methode eine weitere Verbreitung nicht gefunden zu haben.

Die übrigen Verfahren der Sterilisation auf chemischem Wege beruhen auf der Verwendung gasförmiger Antiseptika, welche den Vorteil haben, die elastischen Katheter weniger zu schädigen.

Nicht mehr in Gebrauch ist heutzutage die von Forcault empfohlene Methode der Desinfektion mittels gesättigter Quecksilberdämpfe. Katheter, welche in den von metallischem Quecksilber entwickelten Dämpfen sich befinden, sollen bei 32° innerhalb 14 Stunden sterilisiert werden. Dagegen fand Guyon, daß ein 24- und 48-stündiger Aufenthalt in Quecksilberdämpfen noch nicht genüge, und erst nach 72 Stunden sich eine „sichere Sterilisation" erreichen lasse, und zwar bei alten Kathetern etwas früher als bei neuen (ungebrauchten). Grosglik konnte mit Staphylococcus albus und aureus infizierte Katheter, die über metallischem Quecksilber in einer gesättigten Hg-Atmosphäre hingen, bei gewöhnlicher wie bei Brüttemperatur (33°) nicht einmal in 4—6 Tagen sterilisieren. Desgleichen hält Oppler Quecksilberdämpfe für unzureichend zur Sterilisation von Kathetern.

(Forts. folgt.)

Berichtigung.

Im Artikel: „Ellermann, Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen“ steht p. 385 Zeile 20 von unten:

Diagnose: Scarlatina, Diphtherit. fauc. D. B.
anstatt
Diagnose: Scarlatina, Diphtherit. fauc. ÷ D. B.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bonome, A., Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. (Schluß.), p. 732.

Heyrovsky, J., Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae, p. 704.

Jancsó, Nikolaus, Der Einfluß der Temperatur auf die geschlechtliche Generationsentwickelung der Malariaparasiten und auf die experimentelle Malariaerkrankung, p. 650.

Jörgensen, Axel, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. (Forts. u. Schluß.), p. 679.

Rodet, M. A., Expériences sur la valeur antiseptique du savon commun. Remarques sur l’action des antiseptiques en général, et sur la biologie du staphylocoque pyogène, p. 748.

Sittler, Paul, Die Sterilisation elastischer Katheter, p. 752.

Südmersen, Henry J., On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum. (Schluß.), p. 713.

Theohari, A. und **Babes, A.**, Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen, p. 663.

Tiberti, N., Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern. (Forts. u. Schluß.), p. 625.

Waelsch, Ludwig, Ueber einen eigenartigen Mikroorganismus im Präputialsekret (Bacillus involutus), p. 645.

Wesenberg, G., Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat. (Schluß.), p. 740.

Ziemann, Hans, Nachtrag zum Beitrag zur Trypanosomenfrage, p. 662.

Berichtigung, p. 768.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Fig. 1.

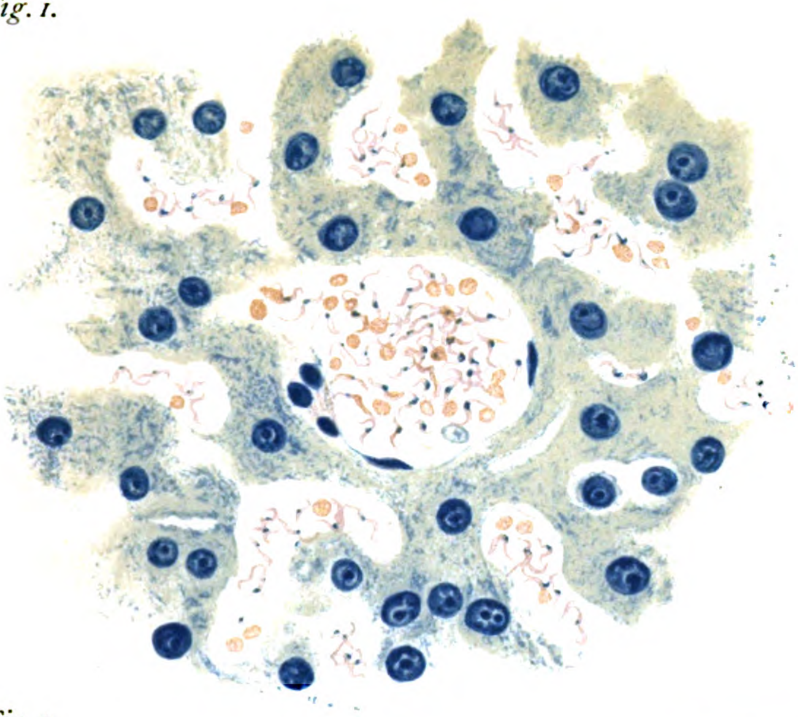
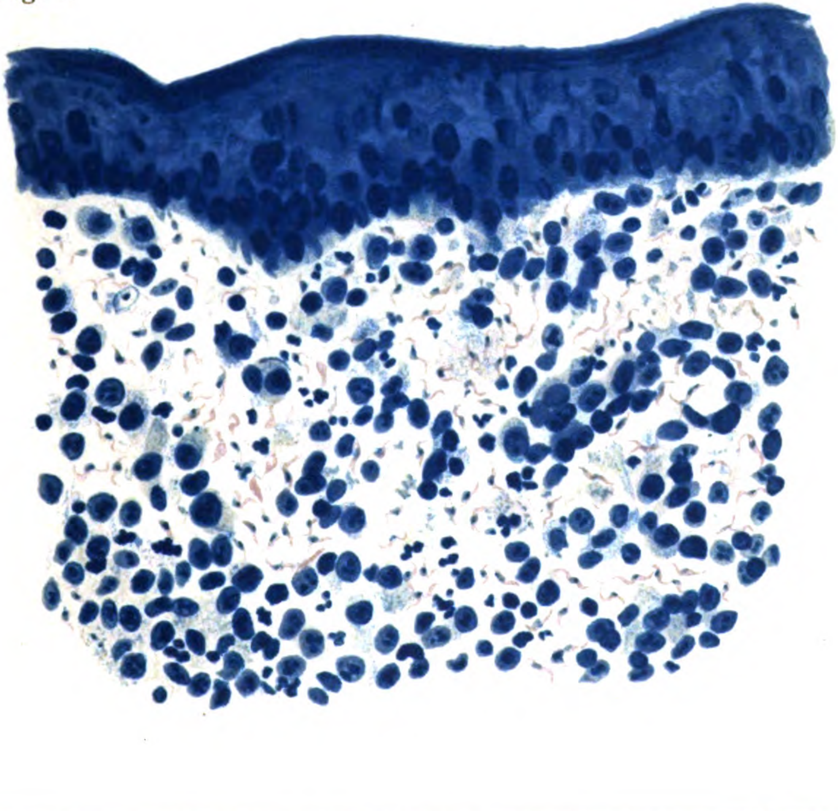


Fig. 2.



M. Stern del. Verlag von **Gustav Fischer**, Jena. **P. Weise, Lith., Jena.**

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXVIII. Heft 7.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXXVIII enthaltenen Arbeiten.

Babes, A., siehe **Theohari, A.**

Bartel, J. und **Stein, R.**, Zur Biologie schwachvirulenter Tuberkelbacillen. 154. 264. 393

Bassu, E., siehe **Fermi, Cl.**

Bertarelli, E., Einige Untersuchungen über die Tuberkulose der Reptilien. 403

—, Ueber die aktive Immunisierung des Menschen gegen Cholera vermittelst autolytischer Produkte des choleragenen Vibrio und über das Wesen dieser autolytischen Produkte. 584

Blumenthal, J. M. und **Lipskerow, M.**, Vergleichende Bewertung der differentiellen Methoden zur Färbung des Diphtheriebacillus. 359

Bonome, A., Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. 601. 732

Breit, Zur Tuberkulosefrage der Kuhpockenlymphe. 271

Bruini, G., Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. 177. 298

Castellani, A., Observations on some protozoa found in human faeces. 66

Cohn, E., Endgültige Entgegnung an Dr. V. Jensen auf seine Frage: „Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art?“ 521

Czarnecka, L., Ueber die Konservierung der Lebensfähigkeit und Virulenz der Mikroben im Markgewebe beim Austrocknen. 164

Delfino, J. C., Immunisierung des Kaninchens gegen das Bakterium der Geflügelcholera (Vaccin Lignières). 231

Doerr, R., Beobachtungen über bacilläre Dysenterie. 420. 511

—, Ueber Spirillum pyogenes Mezinescu. 15

Dorner, siehe **Friedberger.**

Dschunkowsky, E. u. **Luhs, S.**, Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchungen. 367

Ellermann, V., Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen. 383

Fermi, Cl. u. **Bassu, E.**, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose II. 138. 241. 369

Forssman, J., Studien über die Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung gegen Botulismus. 463

Friedberger u. **Dorner**, Ueber die Hämolysinbildung durch Injektion kleinster Mengen Blutkörperchen und über den Einfluß des Aderlasses auf die Intensität der Bildung hämolytischer Ambozeptoren beim Kaninchen. 544

Gaehtgens, W., Der Bacillus jasmino-cyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue, Farbstoff bildende Bakterien. 129

Galli-Valerio, B. u. **Rochaz-de-Jongh, J.**, Ueber die Wirkung von Aspergillus niger und A. glaucus auf die Larven von Culex und Anopheles. 174

German, Ueber Cyllin. 237

Ghon, A. u. **Sachs, M.**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen III. 1. 131

Halberstaedter, L., Untersuchungen bei experimentellen Trypanosomenerkrankungen. 525

Heller, O., Die Rothbergersche Neutralreaktion auf Gelatine bei 37°. 117

Heyrovský, J., Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae. 704

Hollack, J., Die Häufigkeit der Trematoden bei Rana esculenta L. 199

Jancsó, N., Der Einfluß der Temperatur auf die geschlechtliche Generationsentwickelung der Malariaparasiten und auf die experimentelle Malariaerkrankung. 650

Jensen, V., Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art? 51

Jörgensen, A., Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes im Verlaufe des Typhus abdominalis. 475. 556. 679

de Jong, D. A., Die Steigerung der Virulenz des menschlichen Tuberkelbacillus zu der des Rindertuberkelbacillus. 146. 254

Kern, F., Ein verbessertes Käfigmodell für Versuchstiere. 126

Kerner, J., Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken. 223. 329

Kikuchi, Y., Ueber den Einfluß erhöhter Temperatur auf die bakterizide Wirkung des normalen Serums. 220

Kireeff, M., Bakteriologische Untersuchungen des Blutes bei Flecktyphus. 518

Klein, E., Ueber die Verbreitung des Bacillus enteritidis Gaertn. in der Kuhmilch. 392
—, Ueber einen neuen tierpathogenen Vibrio, V. cardii. 173
Kokubo, K., Das Schulersche Triumph-Isny-Filter. 122
Konrádi, D., Ist die Wut vererbbar? 60
—, Weitere Untersuchungen zur Kenntnis der Lymphe und Prophylaxe der experimentellen Lyssa. 194

Landsteiner, K., Ueber die Unterscheidung von Fermenten mit Hilfe von Serumreaktionen. 344
— und **Leiner, K.,** Ueber Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blut. 548
Leiner, K., siehe **Landsteiner, K.**
v. Linstow, Strongyloides Fülleborni n. sp. 532
Lipskerow, M., siehe **Blumenthal, J. M.**
Löwit, M., Berichtigung. 328
van Loghem, J. J., Bakteriologischer Befund bei spontaner vesikaler Pneumaturie eines diabetischen Kranken. 425
Lüdke, H., Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. 289
—, Zur Spezifität der Antikörper. 81. 209. 320. 451. 537
Luhs, S., siehe **Dschunkowsky, E.**

Maldague, L., Bacilles d'Eberth dans un kyste de l'ovaire après la guérison d'une fièvre typhoïde. 249
Markl, Ueber den Mechanismus der Abwehr des Organismus bei Infektion mit Tuberkelbacillen. 69
Marschall, F., Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. 347
Miller, E. C. L., On the keeping qualities of antidiphtheritic serum. 233
Mori, N., Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie. 42. 186
—, siehe **Ottolenghi, D.**

Neufeld, F. und **Töpfer, H.,** Ueber hämolytische und hämotrope Sera. 456

Ottolenghi, D. und **Mori, N.,** Die Wirkung des Aethyläthers auf die hämolytischen und bakteriziden Sera. 338. 468

Pettersson, A., Ueber die Virulenz und die immunisierende Wirkung des Typhusbacillus. 73
Pfaff, F., Eine infektiöse Erkrankung der Kanarienvögel. 275

Rochaz-de-Jongh, J., s. **Galli-Valerio, B.**
Rodet, A., Expériences sur la valeur antiseptique du savon commun. 748
Rothberger, C. J., Ueber ein akut wirkendes Bakterientoxin. 165
Rullmann, Ueber das Verhalten des im Erdboden eingesäten Typhusbacillus. 380

Sachs, M., siehe **Ghon, A.**
Sanfelice, F., Streptothrix-Pseudotuberkulose. 30
Scheller, R., Experimentelle Beiträge zur Theorie und Praxis der Gruber-Widalschen Agglutinationsprobe. 100
Schwarz, C., Ueber einen neuen, für Kaltblütler pathogenen Mikroorganismen (H. hypothermos). 11
Shibayama, G., Paratyphus in Japan. 497
—, Ueber die Agglutination des Pestbacillus. 482
Sieber, N., Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe des Blutfibrins. 571
Sittler, P., Die Sterilisation elastischer Katheter. 752
Smidt, H., Zur Charakterisierung der Hogcholeragruppe. 24
Speiser, P., Eine zweite Rattenlaus aus Abyssinien. 318
—, Zur Kenntnis ektoparasitischer Milben. 535
Stebbins, J., On the occurrence of a large sized parasite of the Karyolysus order, in the blood of Rana clamata. 315
Stein, R., siehe **Bartel, J.**
Strószner, E., Typhusbacillen in dem Wasser eines Hausbrunnens. 19
Stross, O., Ueber das Wachstum der Gonokokken auf serumhaltigen Nährböden. 491
Südmersen, H. J., On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum. 591. 713
—, Ueber eine infektiöse Pneumonie der Kaninchen und deren Bekämpfung mit Antiserum. 343

Tarozzi, G., Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. 619
Theohari, A. und **Babes, A.,** Ueber ein gastrotoxisches Serum, mit einem Studium des Chemismus des Magens und der von diesem Gastrotoxin veranlaßten histologischen Veränderungen. 663
Tiberti, N., Ueber den Transport des Tetanusgiftes zu den Rückenmarkszentren durch die Nervenfasern. 281. 413. 499. 625
Töpfer, H., siehe **Neufeld, F.**

Vedeler, Blastomyceten im Urin. 54
Veszprémi, D., Kultur- und Tierversuche mit dem Bacillus fusiformis und dem Spirillum. 136

Waelsch, L., Ueber einen eigenartigen Mikroorganismus im Präputialsekret (Bacillus involutus). 645
Wesenberg, G., Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat. 612. 740

Widakowich, V., Ueber Nematoden an der Hypophysis cerebri von Felis domestica. 447
Wirgin, G., Ueber den Einfluß des Aethylalkohols auf die Bildung von agglutinierenden Stoffen bei Kaninchen nach intravenöser Impfung mit M. pyogenes aureus oder mit B. typhi. 200
Ziemann, H., Beitrag zur Trypanosomenfrage. 307. 429
—, Nachtrag zum Beitrag zur Trypanosomenfrage. 662
Zschokke, F., Dipylidium caninum (L.) als Schmarotzer des Menschen. 534

II. Namen- und Sachverzeichnis.

Aderlaß, Einfluß auf die Bildung von Hämolysinen. 546
Aethyläther, Wirkung auf hämolytische und bakterizide Sera. 338. 468
Aethylalkohol, Einfluß auf die Bildung agglutinierender Stoffe. 200
Anaëroben, Kultur unter aëroben Bedingungen. 619
Anaërobiose, Methoden. 138. 241. 369
Antikörper, Spezifität. 81. 209. 320. 451. 537
Antitoxine, Spezifität. 84
Aspergillus glaucus, Wirkung auf Mückenlarven. 174
— niger, Wirkung auf Mückenlarven. 174
Bacillen thermophile, Tätigkeit im Darm. 303
— —, Vorkommen in der Natur. 301
— anthracis symptomatici, anaërobe Kultur. 140
— botulinus, aërobe Züchtung. 624
— cadaveris sporogenes, aërobe Züchtung. 624
— carnis, aërobe Züchtung. 624
— — saprogenes, aërobe Züchtung. 624
— caticida Mori, Kultur und Eigenschaften. 42. 186
— cholerae gallinarum, Immunisierung des Kaninchens. 231
— diphtheriae columbarum, anaërobe Kultur. 141
— enteritidis sporogenes, aërobe Züchtung. 624
— —, Vorkommen in der Kuhmilch. 392
— flavo-aromaticus Gaehtg., Kultur. 130
— fluorescens, anaërobe Kultur. 141
— fusiformis, Kultur. 136
— hypothermos Schwarz für Kaltblütler pathogen. 11
— jasmino-cyaneus Gaehtg., Kultur. 129
— indicus, anaërobe Kultur. 141
— involutus Waelsch im Präputialsekret. 645
— megatherium, anaërobe Kultur. 141
— oedematis maligni, anaërobe Kultur. 140
— prodigiosus, anaërobe Kultur. 141
— putrificus, aërobe Züchtung. 624
— pyocyaneus, anaërobe Kultur. 141
— —, Verhalten gegen Metakalin. 613
— radiciformis, anaërobe Kultur. 141
— subtilis, anaërobe Kultur 141
— viscosus, anaërobe Kultur. 141
Bacterium aerogenes, Verhalten gegen Metakalin 741
— coli commune, anaerobe Kultur. 141
— — —, Verhalten gegen Metakalin. 613
— rubrum, anaerobe Kultur. 141
— vulgare bei Pneumaturie. 427
Bakterien der Hogcholeragruppe, Agglutinationsversuche. 24
— thermophile im menschlichen Darmkanal. 177. 298
Bakterienagglutinine, Spezifität. 209. 320. 451
Bakteriolysine, Spezifität. 85
Blastomyces, anaërobe Kultur. 141
Blastomyceten im Urin. 54
Blutentnahme sterile, Apparat. 367
Blutfibrin, bakterienfeindliche Stoffe. 571
Botulismus, Antitoxinbildung bei aktiver Immunisierung. 463
Bradsotbacillus, aërobe Züchtung. 624
Brandesia turgida in Rana esculenta. 200
Cholera, aktive Immunisierung des Menschen. 584
Choleravibrionen, Verhalten gegen Cyllin. 239
Clostridium carnis foetidum, aërobe Züchtung. 624
Cyllin, desinfizierende Kraft. 237
Cytolysine, Spezifität. 537
Darmkanal menschlicher, thermophile Mikrobenflora. 177. 298
Desagglutination, Deutung. 328
Diphtheriebacillen, Vergleich der Färbungsmethoden. 359
—, Verhalten gegen Cyllin. 239
Diphtherieserum, Gehalt an Heilkraft. 233
Diplococcus pneumoniae, Biologie und Agglutination. 704
— —, Resistenz im Markgewebe. 164
Diplodiscus subclavatus in Rana esculenta. 199
Dipylidium caninum im Menschen. 534
Dysenterie bacilläre, Beobachtungen über die Bacillen. 420. 511
Dysenteriegift, Eigenschaften. 289
Echinorhynchus ranae in Rana esculenta. 199
Entamoeba undulans Castell. in menschlichen Faeces. 67
Fermente, Unterscheidung durch Serumreaktion. 344

Flecktyphus, bakteriologische Untersuchungen des Blutes. 518
Gonococcus Neisseri, Wachstum auf serumhaltigen Nährböden. 491
Gorgodera cygnoides in Rana esculenta. 199
Hämagglutinine, Spezifität. 87
Hämolysine, Spezifität. 95
Halipegus ovocaudatus in Rana esculenta. 200
Hefe von Klein, Artberechtigung. 51. 521
Hogcholera, Unterscheidung der Bakterien. 24
Hundswut experimentelle, Symptome und Prophylaxe. 194
—, Vererbbarkeit. 60
Immunisierung durch kleinste Mengen von Erythrocyten. 544
Isoagglutinine im menschlichen Blut. 548
Isolysine im menschlichen Blut. 548
Käfig für Versuchstiere. 126
Kanarienvögel, infektiöse Erkrankung. 275
Karyolysus clamatae Stebb. in Rana clamata. 315
Katheter elastische, Sterilisation. 752
Katzenepidemie durch Bacillus caticida. 42. 186
Malariaparasiten, Einfluß der Temperatur auf die geschlechtliche Generationsentwickelung. 650
Megninia barthonica Speiser auf dem Haselhuhn. 536
Metakalin, desinfizierende Wirkung. 612. 740
Milzbrandbacillen, anaërobe Kultur. 141
—, Resistenz im Markgewebe. 164
Milzbrandbacillensporen, Verhalten gegen Metakalin. 741
Mückenlarven, Abtötung durch Aspergillus. 174
Nährboden von Endo, Leistung zur Unterscheidung typhusähnlicher Bacillen. 350
Nekrosen bakterielle beim Menschen. 383
Nematoden in der Hypophyse von Katzen. 447
Nematoxys ornatus in Rana esculenta. 200
Neutralrotreaktion von Rothberger auf Gelatine bei 37°. 117
Nyctotherus africanus Castell. in menschlichen Faeces. 66
Opisthioglyphe endoloba in Rana esculenta. 199
Paraplectrum foetidum, aërobe Züchtung. 624
Paratyphus, Vorkommen in Japan. 497
Penicillium glaucum, anaërobe Kultur. 141
Peritonitis, Aetiologie. 1. 131.
Pestbacillen, Agglutination. 482
—, Verhalten gegen Cyllin. 237
Pleurogenes claviger in Rana esculenta. 199
— medians in Rana esculenta. 200
Pneumaturie vesikale eines Diabetikers, Bacillenbefund. 425
Pneumonie infektiöse der Kaninchen, Agglutination. 725
Pneumonie infektiöse der Kaninchen, Behandlung mit Antiserum. 591. 713
— — — —, Bekämpfung mit Antiserum. 343
— — — —, beobachtete Bacillen. 597. 713
— — — —, Immunisierung. 723
— — — —, Immunserum. 719
— — — —, schützende Wirkung der bakteriolytischen Sera. 726
— — — —, Symptome. 717
Pneumonoeces similis in Rana esculenta. 200
— variegatus in Rana esculenta. 200
Pockenlymphe, angeblicher Gehalt an Tuberkelbacillen. 271
Polyplax miacantha Speiser auf Ratten in Abyssinien. 318
Präzipitine, Spezifität. 453. 537
Prosotocus confusus in Rana esculenta. 199
Pseudotuberkulose durch Streptothrix. 30
Rana esculenta, Gehalt an Trematoden. 199
Rotz, Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes. 601. 732
Seife, antiseptische Wirkung. 748
Sera hämolytische, Wirkung. 456
— hämotropische, Wirkung. 456
Serum gastrotoxisches, Experimente. 663
— normales, Einfluß erhöhter Temperaturen auf die bakterizide Wirkung. 220
Spinturnix plecoti, Männchen. 535
Spirillen aus Abscessen, Kultur. 136
Spirillum pyogenes, Kultur. 15
Staphylococcus pyogenes aureus, anaërobe Kultur. 141
— — —, Verhalten gegen Cyllin. 237
— — —, Verhalten gegen Metakalin. 613
— — citreus, anaërobe Kultur. 141
Streptococcus scarlatinae, Resistenz im Markgewebe. 164
— —, Verhalten gegen Metakalin. 741
Streptokokken, Agglutination. 330
—, Hämolyse. 224. 329
Streptothricheen thermophile. 304
Strongyloides Fülleborni v. Linst. in Affen. 532
— intestinalis im Menschen. 533
— longus im Schwein etc. 533
— viviparus im Pferd. 534
Tetanus dolorosus, experimentelle Erzeugung. 627
—, Literatur. 642
—, Mechanismus der Kontraktur. 639
—, pathologische Anatomie. 634
—, primäre Färbbarkeit der Nerven. 638
Tetanusbacillen, anaërobe Kultur. 140
Tetanustoxin, Affinität zu den peripherischen Nerven. 630
—, Beziehung zu den sensibeln Nerven. 631
—, Beziehungen zur Cylinderachse der peripheren Nerven. 418. 499
—, Beziehungen zur Lymphe. 633
—, Eigenschaften. 281
—, Eindringen in die Nerven infolge Eintauchens derselben. 503

Tetanustoxin, Eindringen in die peripheren Nervenendigungen. 416
—, Empfänglichkeit der einzelnen Tiere. 283
—, Injektion der Nerven nach Durchschneidung des Rückenmarkes. 507
—, Injektion in die enervierten Muskeln. 509
—, Injektion unter gleichzeitiger Injektion von Antitoxin. 505
—, intravenöse Injektion. 633
—, intravenöse Inokulation. 501
—, Vorhandensein im Blut. 284
—, Vorhandensein im Harn. 285
—, Vorhandensein im Zentralnervensystem. 284
—, Wege zu den Nervenzentren. 288. 413
—, Wirksamkeit an der Inokulationsstelle. 283
—, Wirkung im Zentralnervensystem. 286
—, Zeitdauer des Vorhandenseins in Blut und Nerven. 500
—, zentripetale Wanderung in den Achsenzylinder. 625
Triumph-Filter von Schuler, Leistungsfähigkeit. 122
Trypanosoma vivax, Beschreibung. 662
Trypanosomenerkrankung experimentelle. 525
Trypanosomenkrankheiten in Kamerun. 307. 429
Tuberkelbacillen, extracelluläre Auflösung. 71
— menschliche, Steigerung der Virulenz. 146. 254
—, Phagocytose. 71
— schwachvirulente, Wirkung. 154. 264. 393
—, Verhalten gegen Glycerin. 274
—, Vernichtung im Organismus. 69
—, Vorkommen in Pockenlymphe. 271
Tuberkulose bei Reptilien. 403
Typhus, Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes. 475. 556. 679
Typhusbacillen, Agglutinationsprüfungen. 100
— in Brunnenwasser. 19
— — einer Ovarialcyste. 249
—, Kultur auf Endoschem Nährboden. 347
—, Verhalten gegen Cyllin. 237
—, Verhalten gegen Metakalin. 613. 740
—, Verhalten im Erdboden. 380
—, Virulenz und immunisierende Wirkung. 73
Urin, Vorkommen von Blastomyceten. 54
Vibrio cardii Klein, Kultur. 173
— Nasik, Wirkung des Toxins. 165
— septicus, aërobe Züchtung. 624

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Anaërobiose, Kulturgläschen und Apparate. 138. 139. 142. 145. 241—243. 245. 248. 370
Anopheles, Larve infiziert mit Aspergillus niger. 175
Bacillen anaërobe des Menschen. 136 (Taf.)
— thermophile aus dem menschlichen Darmkanal. 178—185. 299. 300
Bacillus fusiformis. 391 (Taf. Fig. 6—9)
— involutus Waelsch. 649 (Taf.)
Blastomyceten im Urin. 56
Blutentnahme sterile, Apparat. 367
Botulismus, Antitoxinkurven bei Immunisierung. 466
Culex, Larve infiziert mit Aspergillus niger. 175
Entamoeba undulans Castell. 68
Gläschen zur Prüfung desinfizierender Lösungen. 238
Käfig für Versuchstiere. 127
Karyolysus clamatae. 318 (Taf. I. II)
Malaria, Temperaturkurven. 651. 655—657
Nekrose bakterielle beim Menschen, Organschnitte. 391 (Taf. Fig. 1—5)
Nematoden an der Gehirnhypophyse von Katzen. 448
Nyctotherus africanus Castell. 66
Pneumonie infektiöse der Kaninchen. 729
— — —, Kulturen des Bacillus A. 599
Pseudotuberkulose durch Streptothrix, Schnitte und Kulturpräparate. 41 (Taf.)
Spinturnix plecoti, Rückenschild des Männchens. 535
Spirillum pyogenes. 19 (Taf.)
Strongyloides Fülleborni v. Linst. 534 (Taf.)
Tetanus, Schnitte durch Nervenorgane. 644 (Taf.)
Trypanosomiasis, Organschnitte. 532 (Taf.)
Tuberkelbacillen, Auflösung durch Phagocytose. 73 (Taf.)
— aus Reptilien. 413 (Taf.)
Tuberkulose der Ziege, erkrankte Organe. 153. 254—256
— —, Temperaturkurve bei Impfung. 256
— des Kalbes, erkrankte Organe. 259—261
— —, Temperaturkurve bei Impfung. 258. 262
Typhus, Kurven der Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Blutes. 480. 556—570. 680. 681. 683. 684. 685. 688 bis 697
Varanus rarius mit tuberkulösem Knoten. 405

Corrigendum.

S. 743 Z. 16 v. o. lies 1:1600 statt 1:800,
„ 748 „ 3 „ „ „ dabei statt daher,
„ 748 Fußnote 1 Z. 7 lies 3 Moleküle Brom statt 1 Molekül Brom.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:
Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun
Greifswald Königsberg i. Pr.
herausgegeben von
Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I
Verlag von Gustav Fischer in Jena

XXXVIII. Bd. Jena, den 25. Januar 1905. **Heft 1.**

Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg

Schöpfapparat

für die bakteriologische Wasseruntersuchung.

Ein wesentlicher Vorteil auf dem Gebiete bakteriologischer Wasseruntersuchungen wurde in letzter Zeit durch Neuerung und Verbesserungen an Untersuchungsapparaten durch den Maschinenmeister des Wasserwerkes in Strassburg i. Els. Herrn Gillet erzielt.

Die Maschinenfabrik **Jean Hey** in Strassburg konstruiert nach den Angaben des Herrn Prof. Dr. Forster den betreffenden Wasseruntersuchungsapparat, welcher Wasserproben in beliebig gewählter Wassertiefe entnehmen kann und zwar mit solcher Sorgfalt, dass eine Mischung mit den oberen und unteren Wasserschichten als die gewünschte ganz ausgeschlossen ist.

Nähere Auskunft hierüber erteilt die

Maschinenfabrik Jean Hey
in Strassburg i. Els.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Soeben erschienen:

Die Desinfektion der Hände.

Von

Dr. med. Eugen Engels,
Kreisassistenzarzt und Vorsteher der bakteriologischen Untersuchungsstelle der Königl. Regierung zu Stralsund.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Preis: 5 Mark 50 Pfg.

Ueber die Verhütung und Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten.

Vortrag aus dem vom Zentralkomitee für das ärztliche Fortbildungswesen in Preußen veranstalteten Zyklus „Volksseuchen“, gehalten am 16. Oktober 1903

von

Prof. Dr. **E. Lesser,**
Berlin.

Preis: 60 Pfg.

Ueber die Körnerkrankheit.

Vortrag aus dem vom Zentralkomitee für das ärztliche Fortbildungswesen in Preußen veranstalteten Zyklus „Volksseuchen“, gehalten am 30. Oktober 1903

von

Prof. Dr. **J. Hirschberg,**
Geh. Medizinalrat, Berlin.

Mit 1 Karte im Text.

Preis: 1 Mark 80 Pfg.

Milchhygienische Untersuchungen.

Aus dem Institut für Infektionskrankkeiten zu Berlin, Direktor Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Koch.)

Von

Prof. Dr. **Kolle,**
Abteilungsvorsteher am Institut.

Preis: 1 Mark 20 Pf.

SPEYER & PETERS

Spezialbuchhandlung für Medizin

BERLIN N.W. 7, Unter den Linden 43

bieten in wohlerhaltenen, garantiert vollständigen und **gut gebundenen** Exemplaren **an**:

Annales de l'Institut Pasteur. Jg. 1—16. 1887—1902.	875.—
Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. 1—62. 1865—1903. (2880.30)	1800.—
Archiv f. Hygiene. Bd. 1—43. 1883—1902. (650.50)	475.—
Archiv f. exper. Pathologie. Bd. 1—49. 1873—1903. (784.—)	650.—
Archives slaves de biologie. 4 Bde. 1886—88. Ungeb.	65.—
Archives de physiologie norm. et pathol. Jg. 1—22. 1868—90. Ungeb.	325.—
Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 1—33 und Orig. Bd. 34 u. 35. 1887—1903. (562.—)	420.—
Centralblatt, Neurologisches. Jg. 1—22. 1882—1903.	420.—
Charité-Annalen. Jg. 1—27. 1876—1903. (568.—)	200.—
Journal de micrographie. Bd. 1—15 u. 16 H. 1—5. Soweit erschienen. Ungeb.	100.—
Journal of physiology. Bd. 1—30 u. 31$^{\mathrm{I}}$. 1878—1904.	600.—
Liebreich, Encyclopädie d. Therapie. 3 Bde. 1896—1900. (78.— geb.)	40.—
Milne Edwards, Leçons sur la physiologie et l'anatomie. 14 Bde. 1857—81. (frcs. 250.—) Ungeb.	120.—
Revue d'hygiène. Jg. 1—15. 1879—93. (frcs. 300.—) Ungeb.	90.—
Revue de médecine. Jg. 1—22. 1881—1902. (frcs. 440.—)	210.—
Rumpel, Patholog.-anatom. Tafeln. Lfg. 1—15. 1892—97. (60.—) Ungeb.	30.—
Rundschau, Hygienische. Jg. 1—12. 1891—1902. (324.—) Ungeb.	200.—
Virchow's Archiv. Bd. 1—169. 1847—1902.	1400.—
Virchow u. Hirsch, Jahresbericht. Jg. 1—37 für 1866—1902. (1369.—)	550.—
Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 1—40. 1877—1904.	400.—
Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 1—45. 1886—1903. (883.40) Ungeb.	575.—
Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie. Bd. 1—19. 1884—1902. (392.—)	200.—
Zeitschrift f. Nervenheilkunde. Bd. 1—24. 1891—1903. (384.—)	300.—
Zeitschrift f. Psychiatrie. Bd. 1—59. 1844—1902.	900.—

Nachstehende Zeitschriften etc. kaufen wir zu hohen Preisen:

Archiv für Dermatologie.
Encyclopädie d. mikrosk. Technik.
Maly's Jahresbericht d. Tierchemie.
Virchow's Archiv. Bd. 1—13.
Weyl's Handbuch d. Hygiene.
Wochenschrift, Deutsche medicin. Jg. 1875—80.
Zeitschrift für Biologie.
Ziegler's Beiträge.

Für den Bezug neuer Bücher

hält sich die **Sortimentsabteilung** unseres Geschäfts angelegentlichst empfohlen.

Ausserordentlich zahlreiche Beziehungen und mehr oder weniger ständige Vertretungen in allen grösseren Orten des In- und Auslandes ermöglichen eine schnelle und sachgemässe Ausführung aller, auch schwierigerer Aufträge auf in- und ausländische Bücher.

Ganz besonders empfehlen wir uns zur

Annahme von Abonnements auf alle Zeitschriften des In- und Auslandes

die stets am Tage des Erscheinens an die aufgegebenen Adressen zur Absendung gebracht werden.

Korrespondenz auch in französischer und englischer Sprache.

Spezialität: Einrichtung ganzer Bibliotheken

SPEYER & PETERS,

Spezialbuchhandlung für Medizin.
Berlin N.W. 7, Unter den Linden 43.

Diesem Hefte liegt ein Prospekt der Verlagsbuchhandlung Gebr. Borntraeger in Berlin, betr. Michaelis, Die Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin, bei, welcher geneigter Beachtung empfohlen wird.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Bacteriol.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:
Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun
Greifswald Königsberg i. Pr.
herausgegeben von
Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XXXVIII. Bd. Jena, den 17. Juni 1905. Heft 7.

Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg

Inseratenannahme durch die Verlagshandlung.

J. Klönne & G. Müller,
BERLIN NW. 6,
No. 49. Luisen-Str. No. 49.
Lieferanten der bedeutendsten Krankenhäuser und Institute des In- und Auslandes.

Werkstätten für Mikroskopie und Bakteriologie.

☞ Gesamt-Einrichtung **bakteriologischer, chemischer** und **gährungschemischer** Laboratorien. **Bakteriologisches Laboratorium** für den **praktischen Arzt** für Gas-, Benzin-, Spiritus- etc. -Heizung (für Gas-Einrichtung 240 M.), Brutschränke und Sterilisatoren in jeder Grösse in gediegenster Ausführung zu billigsten Preisen. **Normal-Thermoregulator** für Heizung jeder Art (auch Dampf) und Wasserkühlung ganz aus Metall. — **Mikroskope, Special-Mikroskope.** — **Mikroskopische Präparate** aus allen Gebieten der Naturwissenschaften in höchster Vollendung. — **Apparate** und **Gerätschaften** von Metall, Holz, Porzellan und Glas. — **Objektträger, Deckgläschen, Lacke, Farben, Farbelösungen** genau nach Vorschrift der Autoren. — **Chemikalien etc., Nährböden, Reinkulturen.** — **Mikrophotographische Camera** mit allem Zubehör nach Dr. R. Neuhauss. — **Photogramme** und **Diapositive** von Dr. R. Neuhauss. **Apparate** zur Untersuchung von **Blut** und **Harn.**

Deckglasschneide-Anstalt. Farblösungen u. Apparate z. Blutfärbungen. Prof. Ehrlich.

Neu! Mikroskopische Präparate der **„Indischen Pest“.**
Deetjen's Nährboden für Blut-Farblösung nach Romanowsky-Nocht zur Malariafärbung.

QR
1
C4
V.38

Centralblatt f. Bakt.
u. Parasitenkunde
Originale
abt I
1905
235931

J McBroom
Ricketts N

D 20 '21 Some
Porto Rico

Ja 23 '41 E. Hemmens
Bacteriology

QR
1
.C4
V.38

235931

SHELVED BY TITLE

UNIVERSITY OF CHICAGO
72 903 212